



UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Facultad de Medicina y Odontología

**OSTEONECROSIS DE LOS MAXILARES POR
BIFOSFONATOS
(2016)**

TESIS DOCTORAL

Carmen Vidal Real

Directores: Prof. Dr. Abel García García

Prof. Dr. Mario Pérez-Sayáns García

Prof. Dr. José Manuel Suárez Peñaranda



AUTORIZACIÓN DO DIRECTOR /TUTOR DA TESE

D. Abel García García

Profesor/a do Departamento Cirugía y Especialidades Médico-Cirúrgicas

D. Mario Pérez-Sayáns García

Profesor/a do Departamento Cirugía y Especialidades Médico-Cirúrgicas

D. José Manuel Suárez Peñaranda

Profesor/a do Departamento Ciencias Forenses, Anatomía Patológica, Ginecología y Obstetricia y Pediatría

Como Directores da Tese de Doutoramento titulada.

“Osteonecrosis de los maxilares por bifosfonatos”

Presentada por Dna. M^a del Carmen Vidal Real

Alumno do Programa de Doutoramento en Ciencias Odontológicas

Autoriza a presentación da tese indicada, considerando que reúne os requisitos esixidos no artigo 34 do regulamento de Estudos de Doutoramento, e que como Director da mesma non incurre nas causas de abstención establecidas na lei 30/1992.

Asdo.



AGRADECIMIENTOS

Son numerosas las personas que han hecho posible todo este trabajo durante estos años. Muchas de ellas, y en especial todos nuestros pacientes, han colaborado del mejor modo que un investigador puede desear, siempre con ilusión, motivación y con ganas de avanzar y de mejorar las condiciones existentes para intentar que los futuros pacientes puedan gozar de una mayor calidad de vida. A todos y cada uno de ellos, les estoy profundamente agradecida, pero especialmente:

Al **Profesor Dr. D. Abel García García**, que despertó mi interés por esta línea de investigación y fue el creador de la mayoría de ideas a la hora de enfocar nuestros estudios. Sin su predisposición y su ambición por conocer y mejorar, esta tesis no hubiera sido posible.

Al **Profesor Dr. D. Mario Pérez-Sayans García**, por ser el mayor pilar de este proyecto, pero sobretodo por toda la motivación recibida a lo largo de este tiempo, gracias por creer en esto desde el principio, pero sobretodo gracias por creer en mí.

Al **Profesor Dr. D. José Manuel Suárez Peñaranda**, por ser el mejor guía en nuestro estudio, así como también a todo el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Clínico de Santiago de Compostela por poner a nuestra disposición toda la infraestructura necesaria.

Al **Profesor Dr. D. José Manuel Gándara Rey**, por acogerme desde el principio en esta gran familia, por enseñarme y compartir todos sus conocimientos día a día y por recordarme siempre cual era mi camino a seguir.

A todo el **Departamento de Medicina Oral, Cirugía Oral e Implantología** de la Facultad de Medicina y Odontología de Santiago de Compostela, a todos los profesores que componen nuestro Máster, por todo su apoyo y lucha para hacer de nosotros los mejores profesionales que podemos ser.

A la Unidad de Oncología del Complejo Universitario de Santiago de Compostela (CHUS) y en especial al **Dr López López** por su interés en nuestro estudio, y facilitarnos el acceso a su servicio lo que permitió que sus pacientes formaran parte de ello.

A **Manuel Martín Pastor** desde la unidad de Resonancia Magnética RIAIDT de la Universidad de Santiago de Compostela, por su enfoque y participación en el análisis resonancia magnética nuclear.

A todos mis compañeros de gabinete, por ser parte de mi familia adoptiva, y hacer que los días lluviosos de Galicia fueran mucho más amenos.

A toda mi familia, por todo su apoyo incondicional en esta estupenda andadura.

A todos vosotros, gracias.



ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.

1. OSTEONECROSIS DE LOS MAXILARES

1.1. HISTORIA	Págs. 1-2
1.2 DEFINICION: Prevalencia e incidencia	Págs. 3-4
1.3 FACTORES DE RIESGO	
1.3.1 Factores locales	Pág. 5
1.3.2 Factores sistémicos	Pág. 6
1.3.3 Factores relacionados con el fármaco	Pág. 7
1.4 DIAGNÓSTICO	
1.4.1 Clínico	Págs. 8-9
1.4.2 Radiográfico/Tomográfico	Pág. 9
1.4.3 Pruebas complementarias	Pág. 10
1.5 ESTADIOS	Págs. 11-12
1.6 TRATAMIENTO	Pág 13
1.6.1 Conservador	Págs. 14-15
1.6.2 Quirúrgico	Págs 15-16
1.6.3 Otros tratamientos	Pág. 16
1.6.4 Protocolo de tratamiento	Pág. 17
1.7 PREVENCIÓN	Págs. 18-23

2. BIFOSFONATOS

2.1 HISTORIA	Pág. 24
2.2 DEFINICIÓN	Pág. 25
2.3 TIPOS DE BIFOSFONATOS	
2.3.1 Bifosfonatos intravenosos	Págs. 26-27
2.3.2 Bifosfonatos orales	Págs. 27-28
2.4 INDICACIONES	Pág. 29
2.5 METABOLISMO	Pág. 30
2.6 DETECCIÓN DE BIFOSFONATOS	Págs. 31-37
2.7 MRONJ: medicated-related osteonecrosis of the jaws	Págs. 38-39

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	Págs. 40-41
III. HIPÓTESIS	Págs. 42
IV. MATERIAL Y MÉTODOS	
1. PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO	Págs. 43-44
2. PAPEL BACTERIANO EN LA OSTEONECROSIS DE LOS MAXILARES	Págs. 44-45
3. DETECCIÓN DE BIFOSFONATOS MEDIANTE RMN	
3.1 En hueso	Págs. 46-47
3.2 En orina	Págs. 47-50
V. RESULTADOS	
1. DE LA PREVALENCIA Y LOS FACTORES DE RIESGO	Págs. 51-52
2. DEL COMPONENTE BACTERIANO EN LA OSTEONECROSIS DE LOS MAXILARES	Págs 53-59
3. DE LA DETECCIÓN DEL BIFOSFONATO MEDIANTE RMN	
3.1 En hueso	Págs. 60-63
3.2 En orina	Págs. 63-66
VI. DISCUSIÓN	Pág. 67-73
VII. CONCLUSIONES	Pág. 74-75
VIII. BIBLIOGRAFÍA	Págs. 76-88
IX. ANEXOS	Págs. 89-136

I. INTRODUCCIÓN

1. OSTEONECROSIS DE LOS MAXILARES

1.1 HISTORIA

El término de osteonecrosis data de los años 50 donde se publican series de casos de pacientes de cáncer sometidos a radioterapia que tras el tratamiento desarrollaban lesiones óseas en los maxilares.¹⁻³. Dicho tratamiento, en la actualidad sigue produciendo muchas complicaciones a nivel oral ya que la isquemia que se produce de los maxilares, hace muy difícil la curación de los procesos infecciosos que a veces son inevitables en estos pacientes.

Unos años más tarde, se publica el primer artículo donde aparecía una lesión periapical tras la infiltración de arsénico en el tratamiento de conductos. El arsénico fue utilizado como un agente terapéutico y también como veneno en las épocas de la Grecia antigua y romana⁴. Es uno de los agentes usados a lo largo de la historia dental para la desvitalización pulpar, cuando no existía la anestesia. Debido a su capacidad para destruir las células en los tejidos circundantes, el uso de trióxido de arsénico en la pulpectomía vital se ha ido reduciendo⁵. El artículo de Dumlu en 2007, describe un caso de necrosis mandibular en una paciente joven tras la exodoncia de un primer molar fracasado tras el tratamiento de conductos con arsénico⁶. El Toxavit, otro agente desvitalizante, también se ha asociado a la necrosis ósea. En cualquier caso, ambos agentes, están obsoletos actualmente para dichos tratamientos dentales^{7,8}.

Otra de las causas mencionadas en la historia de la osteonecrosis es la fractura intracapsular no tratada, tras varios meses, los síntomas clínicos descritos fueron el dolor en la articulación temporo-mandibular en el lado afectado y la limitación de la apertura bucal. A nivel radiográfico, la cabeza condilar es característicamente erosionada e irregular⁹.

Ya en el año 82, se publicaron los primeros casos de osteonecrosis maxilar en pacientes desdentados a tratamiento con quimioterapia. Concretamente, se planteaba su origen tras una lesión en la mucosa por traumatismo de la prótesis removible.

Los casos de osteonecrosis asépticas tras ostectomías mandibulares tras cirugías ortognáticas también se han descrito en la literatura; se han relacionado, sobretudo como complicación tras un error en la cirugía por parte del cirujano¹⁰.

Ya en el año 2002, se publica un caso clínico de osteonecrosis de los maxilares por tratamiento con quimioterapia en una paciente con leucemia mielógena¹¹; y, al año, se introduce el término actual de osteonecrosis de los maxilares tras el tratamiento con bifosfonatos (BRONJ)^{1,2}.

A pesar de que la osteonecrosis de los maxilares está exclusivamente relacionada con la cavidad oral, existen casos raros publicados en el conducto auditivo externo, la cadera, la tibia y fémur^{13,14}.

1.2 DEFINICIÓN

La osteonecrosis de los maxilares se introduce en 2003 cuando se describen una serie de casos con 36 lesiones óseas en mandíbula y maxilar en pacientes a tratamiento con pamidronato o zoledronato¹².

Es en 2007, cuando la Asociación Americana de Cirujanos Orales y Maxilofaciales (AAOMS) describe la osteonecrosis de los maxilares como una exposición ósea persistente en la cavidad oral tras más de 8 semanas en pacientes con historia previa de uso de bifosfonatos, sin evidencia local de malignidad ni tratamiento con radioterapia de la zona afectada.¹⁵

A pesar de que el término osteonecrosis se ha utilizado en numerosos contextos e incluso en diferentes localizaciones (no sólo a nivel de los maxilares), actualmente se asocia casi de manera exclusiva al uso de los bifosfonatos de manera crónica, condición llamada BRONJ (bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw)¹⁶; la cual en 2014, fue modificada por la AAOMS por el término MRONJ (medication-related osteonecrosis of the jaw) ya que esta complicación se describe también en relación a otros fármacos antirreabsortivos (denosumab) y terapias antiangiogénicas¹⁷.

Prevalencia e Incidencia

La prevalencia de la osteonecrosis de los maxilares es variable según los autores consultados, rondando entre un 7-12%, aunque en artículos más recientes tiende a ser aún más elevada (18.6%)¹⁸.

En cuanto a los bifosfonatos intravenosos, sobre la bibliografía de series de casos, estudios de casos y controles y de cohortes, las estimaciones sobre la incidencia acumulada de MRONJ va desde 0,8 % a 12 %¹⁹.

Respecto a los bifosfonatos orales la eficacia clínica está demostrada, hecho que se refleja en más de 190 millones de prescripciones en todo el mundo de estos fármacos²⁰. A pesar de que hay descritos casos de osteonecrosis, estos pacientes tienen un riesgo considerablemente menor para MRONJ que los pacientes con cáncer tratados con bifosfonatos mensuales intravenosos.

Según la base de datos del fabricante del alendronato (Merck), la incidencia de MRONJ se calculó en 0.7/100.000 personas/años de exposición²¹. Esto se deriva del número de informes (no confirmado) de los casos que se consideraban como MRONJ dividido por el número de pastillas de alendronato prescritos desde la aprobación de la droga. Si bien esta es la mejor información disponible hasta la fecha, puede haber un sesgo en la recogida y validez de esos datos.

En Australia, se estima que la incidencia de BRONJ para los pacientes tratados semanalmente con alendronato oscila entre 0,01-0,04%²².

Felsenberg registró una prevalencia de BRONJ entre los pacientes tratados con bisfosfonatos para la osteoporosis del 0,00038%, basado en los informes de tres casos en el Registro Central Alemán de Necrosis Mandibular²³.



1.3 FACTORES DE RIESGO

1.3.1 Factores locales

A) Cirugía dentoalveolar

- Extracciones
- Implantes dentales
- Cirugía periapical
- Cirugía periodontal

Los pacientes con cáncer tratados con bisfosfonatos intravenosos que se someten a procedimientos dentoalveolares tienen de 5 a 21 veces más riesgo de BRONJ que los pacientes con cáncer tratados con bisfosfonatos intravenosos que no se someten a procedimientos dentoalveolares¹⁹.

B) Anatomía Local

B1) Mandibular

- Torus lingual
- Cresta milohioidea

B2) Maxilar

- Torus palatino

Las lesiones se encuentran con mayor frecuencia en la mandíbula que el maxilar superior (2:1) y más frecuentemente, en áreas con mucosas finas que recubren las prominencias óseas, tales como torus, exostosis óseas y el reborde milohioideo²⁴⁻²⁶.

C) Enfermedades orales concomitantes: abscesos dentales o periodontales²⁷.

1.3.2 Factores sistémicos y demográficos

- A) La edad:** la edad avanzada se asocia a una mayor prevalencia de MRONJ.
- B) El sexo:** estadísticamente no se ha relacionado con un mayor riesgo de osteonecrosis.
- C) La raza:** la raza caucásica tiene un mayor riesgo de MRONJ comparado con la raza negra²⁸.
- D) Diagnóstico de cáncer** con o sin osteoporosis: el tipo de malignidad no está estadísticamente asociado con mayor riesgo de MRONJ, aunque la presencia de metástasis ósea presenta relación según el artículo de Wessel ($P=0.051$)²⁹. Sí se relaciona con mayor riesgo de osteonecrosis los tratamientos coadyuvantes en estos pacientes como los agentes quimioterapéuticos (ciclofosfamida), la eritropoyetina y los esteroides^{30,31}.
- E) Tabaco y alcohol:** existe una posible relación con el tabaco pero no con el alcohol según el estudio de Wessel et al. ²⁹.
- F) Factores genéticos:** se ha demostrado que los polimorfismos en la farnesil pirofosfato sintetasa o en el citocromo del gen P450 CYP2C8 incrementan el riesgo de MRONJ en los pacientes tratados con bifosfonatos intravenosos³²⁻³⁴.
- G) Otros:** la diálisis renal, hemoglobina baja, obesidad y diabetes son variables relacionadas con la MRONJ ^{29,31,35}.

1.3.3 Factores relacionados con el fármaco

- A) **Potencia del bifosfonato:** los bifosfonatos intravenosos presentan una mayor potencia que los orales¹⁹.
- B) **Duración del tratamiento:** a mayor duración del tratamiento, mayor riesgo de MRONJ¹⁹.



1.4 DIAGNÓSTICO

Los pacientes diagnosticados de MRONJ se definen por las características siguientes¹⁷

1. Antecedentes de tratamiento con antireabsortivos o antiangiogénicos.
2. Presencia de exposición ósea ó fistula intra o extraoral de más de 8 semanas sin remisión.
3. Pacientes no tratados con radioterapia ni con enfermedades metastatizantes en maxilares.

Con la intención de estandarizar todos los signos y síntomas presentes en los pacientes afectados de osteonecrosis de los maxilares, en 2010, se propuso un protocolo para el diagnóstico de la MRONJ (Figura 1)³⁶.

1.4.1 Diagnóstico Clínico³⁷

A) Signos clínicos mayores

- Hueso necrótico expuesto en cavidad oral

B) Signos y síntomas clínicos menores

- Absceso
- Desplazamiento de fragmentos mandibulares
- Fístula intra-extra oral
- Deformidad mandibular
- Hipoestesia/parestesia labial
- Fístula gingival o de mucosas
- Excreciones a nivel nasal
- Alveolo postextracción sin curar
- Excreción purulenta
- Expulsión espontánea del sequestro óseo
- Movilidad dental
- Inflamación local

- Dolor óseo y dental
- Trismus

1.4.2 Diagnóstico Radiográfico/Tomográfico³⁸

A) Signos iniciales

- Fractura de las corticales
- Esclerosis de la médula ósea focal
- Engrosamiento de la lámina dura
- Persistencia del alveolo postextracción
- Engrosamiento trabecular

B) Signos tardíos

- Osteoesclerosis difusa
- Fístula oro-antral
- Osteolisis extendida al suelo sinusal
- Osteoesclerosis de huesos adyacentes (zigoma y paladar duro)
- Fractura patológica
- Reacción periódica
- Prominencia del canal del nevio dentario inferior
- Sinusitis

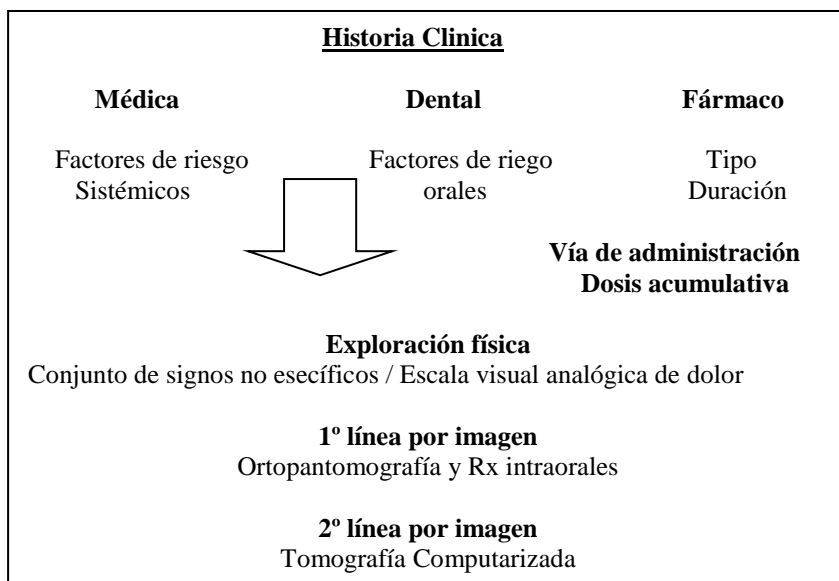


Figura 1. Bedogni A, Fusco V, Agrillo A, Campisi G. Learning from experience. Proposal of a refined definition and staging system for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). Oral Dis. 2012 Sep;18(6):621-623

1.4.3 Diagnóstico mediante pruebas complementarias

También son pruebas diagnósticas el estudio histopatológico y el cultivo microbiológico del área de supuración. La realización de un antibiograma es de gran ayuda ya que estos pacientes serán tratados con antibióticos en tiempos prolongados y es bueno conocer el espectro bacteriano existente y la sensibilidad de esos microorganismos a los diferentes antibióticos disponibles.

1.5. ESTADIOS DE LA MRONJ

Los estadios descritos inicialmente por Ruggiero et al.²⁴ se han ido modificando y adaptando para clasificar a los pacientes con mayor precisión^{17,19,39}.

1.5.1 Paciente de Riesgo: Sin lesiones necróticas aparentes en pacientes asintomáticos a tratamiento con bifosfonatos orales o intravenosos.

1.5.2 Estadio 0: Pacientes sin evidencia clínica de necrosis ósea, pero con síntomas no específicos o hallazgos clínicos y radiográficos.

A) *Síntomas*

- Odontalgia sin causa odontogénica
- Dolor a nivel mandibular que puede irradiarse a la región de la articulación temporomandibular
- Dolor sinusal, que puede estar asociado con la inflamación y engrosamiento de la pared del seno maxilar
- Alteración en la función neurosensorial

B) *Hallazgos Clínicos*

- Pérdida dentaria sin causa periodontal
- Fístula periapical o periodontal que no está asociada a una necrosis pulpar por caries

C) *Hallazgos Radiográficos*

- Reabsorción ósea no atribuible a enfermedad periodontal crónica.
- Cambios en el trabeculado y densidad ósea y resistencia a la curación del alveolo postextracción
- Ensanchamiento/oscurcimiento del ligamento periodontal
- Estrechamiento del canal del nervio dentario inferior

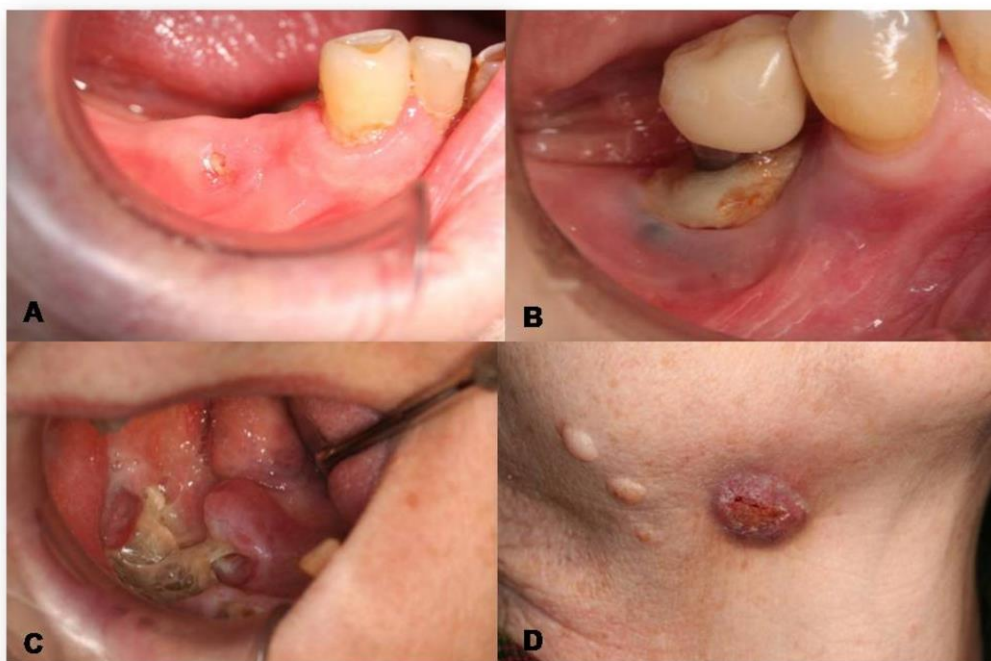
Estos hallazgos no específicos, que caracterizan el Estadio 0, pueden ocurrir en pacientes con una historia previa de estadios más avanzados donde la enfermedad ha curado y no tienen ninguna evidencia clínica de hueso expuesto.

1.5.3 Estadio 1: Exposición ósea asintomática sin signos clínicos de inflamación e infección.

1.5.4 Estadio 2: Exposición ósea con infección acompañada de dolor, eritema o inflamación de la mucosa, con o sin supuración.

1.5.5 Estadio 3: Exposición ósea asociada a dolor, inflamación e infección y una o más de las siguientes complicaciones:

- Hueso necrótico expuesto más allá de la región alveolar, como el borde inferior de la rama mandibular, seno maxilar o zigoma.
- Fractura patológica
- Comunicación oro-antral y oro-nasal.
- Fístula extraoral.



Estadios ONM. A) Estadio 1 B) Estadio 2 C) D) Estadio 3.

1.6. TRATAMIENTO

Para enfocar el tratamiento a realizar ante esta complicación, es importante saber la patofisiología de la MRONJ, sólo así podremos establecer un plan de tratamiento adecuado. Actualmente el origen no está descrito de manera concreta, se habla de un origen multifactorial. La supresión de la remodelación ósea puede contribuir al desarrollo de la osteonecrosis por una actividad inadecuada de los osteoclastos que no permiten la curación del alveolo postextracción. La presencia de la microflora en la cavidad oral, también se ha asociado como factor promotor de la osteonecrosis de los maxilares, ya que numerosos estudios de biopsias y secuestros óseos muestran la presencia de bacterias como *Fusobacterium*, *Eikenella*, *Bacillus*, *Actinomyces*, *Staphylococcus* and *Streptococcus* ⁴⁰. La infección bacteriana produce citoquinas locales que promueven la osteolisis local que contribuye a la estimulación de la reabsorción ósea y por tanto, a la necrosis posterior⁴¹⁻⁴³. Además, artículos recientes relacionan la presencia de *Actinomyces* en la MRONJ, aunque son estudios pequeños de series de casos con poco impacto a la hora de establecer una pauta de tratamiento concreta ^{28,44-46}.

Los *Actinomyces* son bacterias Gram positivas anaerobias facultativas no formadoras de esporas y comúnmente filamentosas. Son comensales habituales de la mucosa de la orofaringe, tracto intestinal y tracto genital de la mujer, que cuando se rompe la barrera mucosa por traumatismos, intervenciones quirúrgicas o cuerpos extraños, pueden invadir estructuras de los tejidos profundos y comprometer la respuesta al tratamiento. La enfermedad crónica progresiva se denomina actinomicosis, y el tratamiento de esta palogía se basa en la terapia antimicrobiana prolongada durante 2-6 meses en combinación con la cirugía^{47,48}.

1.6.1 Tratamiento Conservador

A) Higiene Oral: Instruir al paciente en una buena técnica de cepillado y buen control de placa diario.

B) Examen dental periódico: visitas periódicas para el control de nueva patología que pueda ser tratada de un modo conservador.

C) Enjuagues con antimicrobianos: el colutorio por excelencia es la clorhexidina al 0.12%.

D) Tratamiento antibiótico: se han descrito múltiples pautas antibióticas en la literatura, pero lo que es evidente es que cada vez hay más resistencia bacteriana a las penicilinas. Se aconseja siempre un antibiograma para el estudio de la sensibilidad y las resistencias con el fin de dar el tratamiento más adecuado.

- Amoxicilina con o sin ácido clavulánico (500mg/1 g)
- Clindamicina (300mg)
- Azitromicina (500mg)
- Metronidazol con betalactámicos

E) Terapia con ozono

El ozono es un gas natural producido por la atmosfera con propiedades antimicrobianas y curativas. El papel como tratamiento en la osteonecrosis de los maxilares se ha discutido en estudios clínicos y preclínicos ya que se pensaba que dicho gas inducía la reparación tisular y, por consiguiente, la curación de las mucosas⁴⁹.

En numerosos estudios se ha utilizado esta terapia como adyuvante al tratamiento antibiótico con buenos resultados, aunque todavía son necesarios estudios estandarizados para determinar la efectividad de manera certera⁵⁰.

F) Oxígeno hiperbárico

El uso del oxígeno hiperbárico (HBO) presenta mucha controversia en la literatura. Se piensa que estimula la curación de los tejidos, reduce el edema y la inflamación, estimula la proliferación celular y modera la supresión del remodelado óseo producida por el uso de bifosfonatos⁵¹⁻⁵³.

G) Láser blando

Método innovador y efectivo en medicina con efectos en la disminución del dolor, mejora en la curación de la herida y ayuda en la regeneración nerviosa. A nivel oral, mejora la reepitelización tras la cirugía periodontal o de terceros molares^{52,54}.

La mayoría de tratamientos conservadores por sí solos no demuestran resultados certeros sobre su efectividad, sobretodo en estadios más avanzados. Los autores los utilizan en combinación al tratamiento antibiótico y sí observan que pueden ayudar a la mejora del paciente sobretodo en cuanto a la regeneración de los tejidos; pero siempre reforzados bajo un tratamiento antibiótico adecuado (Tabla 1)⁵⁵.

TIPO DE TRATAMIENTO	AUTOR/AÑO	No. PACIENTES CURADOS/No PACIENTES TRATADOS (%)
Tratamiento Antibiótico	Melea <i>et al.</i> (2014)	23/38 (60)
	Van den Wyngaert <i>et al.</i> (2009)	16/33 (53%)
	Scoletta <i>et al.</i> (2010)	18/30 (62%)
	Nicolatou-Galitis <i>et al.</i> (2011)	7/47 (14.9%)
Tratamiento antibiótico + Oxígeno hiperbárico	Freiberger <i>et al.</i>	13/25 (52%)
Tratamiento antibiótico + ozono	Ripamonti <i>et al.</i> (2011)	10/10 (100%)
Pentoxifilina + α -tocoferol	Magremanne <i>et al.</i> (2014)	1/1 (100%)

Tabla 1. Resumen de estudios con un enfoque conservador para el manejo de la osteonecrosis relacionados con ONM ⁵⁵

1.6.2. Tratamiento Quirúrgico

Destinado a aquellos pacientes con estadios II y III o aquellos que no remitan tras haber realizado el tratamiento conservador.

A) Cirugía conservadora: incluye la remoción del hueso necrótico (secuestrotomía) y/o desbridamiento superficial asociado con terapia antibiótica y enjuagues de clorhexidina.

B) Cirugía resectiva: destinada a los pacientes donde los anteriores tratamientos no han sido efectivos o cuando hay estadios muy avanzados. Este procedimiento está en entredicho ya que es difícil asegurar la resección completa del hueso necrosado hasta una zona de hueso sano^{56,57}.

Numerosos estudios demuestran altos porcentajes de mejora en los pacientes sometidos a tratamiento quirúrgico tanto con procedimientos conservadores como resectivos (Tabla 2)⁵⁵.

TIPO DE TRATAMIENTO	AUTOR /AÑO	No. PACIENTES CURADOS/No PACIENTES TRATADOS (%)
CIRUGÍA CONSERVADORA	Rugani <i>et al.</i> (2014)	15/17 (88.2%)
	Vescovi <i>et al.</i> (2012)	11/17 (65%)
	Thumbigere-Math <i>et al.</i> (2009)	3/19 (15%)
	Williamson <i>et al.</i> (2010)	40/40 (100%)
	Vescovi <i>et al.</i> (2014)	25/27 (92.6%)
	Graziani <i>et al.</i> (2012)	227 (54%)
	Wutzl <i>et al.</i> (2008)	24/41 (59%)
CIRUGÍA CONSERVADORA + OZONO	Agrillo <i>et al.</i>	57/94 (60%)
CIRUGÍA CONSERVADORA + L-PRF	Kim <i>et al.</i>	26/34 (77%)
CIRUGÍA RESECTIVA	Graiani <i>et al.</i> (2012)	87/120 (72.5%)
	Arlson and Basile (2009)	87/95 (92%)
	Bedogni <i>et al.</i> (2011)	27/30 (90%)
	Voss <i>et al.</i> (2012)	20/21 (95%)
	Schubert <i>et al.</i> (2012)	47/54 (87%)

Tabla 2. Resumen de estudios con un enfoque quirúrgico para el tratamiento de la BRONJ. L-PRF (malla de fibrina rico en plaquetas y Leucocitos).

1.6.3. Otros Tratamientos

El uso de células madre^{58,59}, plasma rico en plaquetas⁶⁰, la administración de hormona paratiroidea⁶¹ o el uso de leucocitos y mallas de fibrina ricas en plaquetas⁶² son también propuestas prometedoras pero que requieren más estudios clínicos que avalen su efectividad.

1.6.4 PROTOCOLO PARA EL TRATAMIENTO DE LA MRONJ ^{19,24}

Pacientes de Riesgo: No requieren ningún tratamiento, pero sí deben ser informados de los riesgos de desarrollar MRONJ, así como los signos y síntomas de esta enfermedad.

Estadio 0: Tratamiento sintomático y control de los factores locales, tales como la caries y la enfermedad periodontal.

Estadio 1: Enjuagues diarios con agentes antimicrobianos (clorhexidina al 0.12%) y visitas regulares de control.

Estadio 2: Enjuagues antimicrobianos orales (clorhexidina al 0.12%) en combinación con terapia antibiótica.

Estadio 3: Combinación de diferentes pautas

- Desbridamiento quirúrgico del hueso necrótico
- Terapia antibiótica (oral o intravenosa)
- Analgesia
- Enjuagues diarios con agentes antimicrobianos (clorhexidina al 0.12%)

Independientemente del estadio que presente el paciente, los segmentos móviles del sequestro óseo deben ser retirados. La extracción de dientes afectados con sintomatología dentro del hueso expuesto necrótico debe ser considerada ya que es poco probable que la extracción exacerbe el proceso necrótico ya establecido.

1.7. PREVENCIÓN

A pesar de todos los tratamientos propuestos, los artículos más actuales coinciden en que ninguno de ellos es efectivo en la totalidad de los casos, por lo tanto, se insiste en que el principal objetivo en estos pacientes es la prevención de esta complicación.

La AAOMS ya en 2009¹⁶, determinó la prevención como principal objetivo en el manejo de estos pacientes recomendando que los pacientes sean evaluados así como tratados antes de empezar el tratamiento con bifosfonatos.

Ya existen estudios que documentan que el tratamiento dental preventivo disminuye el riesgo de MRONJ entre los pacientes con tumores malignos tratados con bisfosfonatos intravenosos^{63,64}. Estos hallazgos sugieren que, si bien la MRONJ no se elimina, las evaluaciones y el tratamiento dental previo al inicio de la terapia con bifosfonatos en pacientes con cáncer reduce el riesgo de MRONJ.

Además, aconsejan revisar las dosis administradas a los pacientes, ya que está demostrado⁶⁵ que la dosis acumulada puede aumentar el riesgo de complicaciones.

El riesgo de desarrollar MRONJ por el tratamiento con bifosfonatos orales es mínimo, pero parece aumentar cuando la duración del tratamiento es superior a los 3 años. Este período de tiempo se puede acortar en presencia de ciertas enfermedades concomitantes, tales como el uso de corticosteroides de manera crónica. Si las condiciones sistémicas lo permiten, el clínico puede considerar la interrupción de los bifosfonatos orales durante un período de 3 meses antes y 3 meses después de la cirugía dental invasiva de elección con el fin de disminuir el riesgo de MRONJ. La justificación de este enfoque se basa en datos extrapolados que demuestran fluctuaciones en la función de los osteoclastos, que se relaciona con el tratamiento con bifosfonatos, y en estudios recientes que muestran un mejor resultado en el tratamiento de la MRONJ tras la supresión del fármaco⁶⁶. A largo plazo, se requieren estudios prospectivos para establecer la eficacia de los periodos de supresión de estos medicamentos para reducir el riesgo de MRONJ en pacientes que reciben bisfosfonatos orales.

1.7.1. Pacientes a punto de iniciar el tratamiento con bifosfonatos¹⁹.

El objetivo es reducir al mínimo el riesgo de desarrollar MRONJ a pesar de que un pequeño porcentaje de los pacientes que reciben bisfosfonatos intravenosos pueden desarrollar osteonecrosis de forma espontánea¹⁹. Por lo tanto, si las condiciones médicas del paciente lo permiten, el inicio del tratamiento debe retrasarse hasta que la salud dental sea óptima^{63,64}. Esta decisión debe ser tomada por su médico junto con el odontólogo y otros especialistas implicados en el cuidado del paciente.

Los dientes no tratables y los que tienen un mal pronóstico deben ser extraídos. Además, otras cirugías dentoalveolares necesarias también deben ser realizadas en este momento. El inicio del tratamiento con bifosfonatos, si es posible, debe retrasarse hasta la curación completa de la mucosa (14-21 días) o hasta que haya una cicatrización ósea adecuada.

La profilaxis dental, el control de las caries y la odontología restauradora conservadora son esenciales para mantener la salud dental. Este nivel de atención debe ser continuado indefinidamente. Los pacientes con prótesis completas o parciales deben ser examinados para evitar las áreas de trauma en las mucosas, especialmente en el reborde lingual. Es fundamental que los pacientes sean educados en cuanto a la importancia de la higiene oral y las evaluaciones dentales regulares, e instruidos específicamente para comunicar cualquier dolor, hinchazón o zona de exposición ósea.

1.7.2 Pacientes asintomáticos que reciben bisfosfonatos intravenosos

Deben evitarse los procedimientos que implican lesión ósea directa, por lo tanto, los dientes no restaurables pueden ser tratados mediante la eliminación de la corona y el tratamiento endodóntico de los restos radiculares²¹. La colocación de implantes dentales debe evitarse en los pacientes oncológicos expuestos a los bifosfonatos más potentes (ácido zoledrónico y pamidronato) con un programa de dosificación frecuente (4-12 veces al año).

1.7.3 Pacientes asintomáticos que reciben tratamiento con bisfosfonatos orales.

En general, estos pacientes parecen tener manifestaciones menos graves de necrosis y responden más rápidamente a los tratamientos descritos^{67,68}. La cirugía alveolodentaria electiva no parece estar contraindicada en este grupo aunque se recomienda que los pacientes sean informados adecuadamente sobre el pequeño riesgo de complicaciones en la cicatrización ósea. La utilización de los niveles de los marcadores de recambio óseo junto con un descanso en el tratamiento de estos medicamentos ha sido documentada como una herramienta adicional para guiar las decisiones de tratamiento en pacientes expuestos a los bifosfonatos orales⁶⁸. En la actualidad, la eficacia de los marcadores sistémicos de recambio óseo para evaluar el riesgo de desarrollar necrosis de la mandíbula en pacientes con riesgo esta en entredicho, lo que requiere más investigaciones antes de ser considerado una herramienta de evaluación de riesgo válida. También se requieren a largo plazo, los estudios prospectivos para establecer la eficacia de los periodos de supresión de estos medicamentos (holidays drug) para reducir el riesgo de MRONJ en estos pacientes.

El riesgo de MRONJ parece estar más asociado a la duración del tratamiento (≥ 3 años) que a la dosificación, ya que no ha habido ninguna información que indique que la dosificación mensual de bifosfonatos, esté asociada, ya sea con un riesgo elevado o reducido de MRONJ cuando se compara con los regímenes de dosis semanales.

Todavía no existen recomendaciones sólidas basadas en la investigación clínica para los pacientes que toman bifosfonatos orales. Las estrategias de “Task Force” ya descritas han permanecido esencialmente sin cambios y están basadas en la experiencia clínica de los médicos (opinión de expertos) que participan en el cuidado de estos pacientes^{24,64,68-70}.

1.7.3.1 Pacientes que han tomado un bisfosfonato oral durante menos de 3 años y que no tienen factores de riesgo clínicos, alteraciones y con posibilidad de cirugía programada.

Incluye todos los procedimientos comunes a los cirujanos orales y maxilofaciales, periodoncistas y especialistas.

Si se colocan implantes dentales, debe proporcionarse un consentimiento informado en relación con un posible fracaso del implante y posible osteonecrosis de los maxilares si el paciente continúa tomando bisfosfonatos orales. También es recomendable ponerse en contacto con el médico que ha prescrito inicialmente el bifosfonato oral para sugerir el seguimiento de estos pacientes y tener en cuenta una posible dosificación alternativa del bifosfonato, la supresión temporal del medicamento o una alternativa al mismo.

1.7.3.2 Pacientes que han tomado un bifosfonato oral durante menos de 3 años asociado a corticoides.

Debemos ponernos en contacto con su médico para considerar la interrupción del tratamiento oral durante al menos 3 meses antes de la cirugía oral, si las condiciones sistémicas lo permiten. La reanudación del bisfosfonato no debe realizarse hasta la cicatrización ósea completa. Estas estrategias se basan en la opinión de expertos con experiencia clínica significativa y la hipótesis de que el tratamiento concomitante con corticosteroides puede aumentar el riesgo de desarrollar MRONJ.

1.7.3.3 Pacientes que han tomado un bisfosfonato oral durante más de 3 años con o sin corticoide asociado.

Debemos contactar con su médico para considerar la interrupción del tratamiento oral durante 3 meses antes de la cirugía oral, si las condiciones sistémicas lo permiten y, de igual modo, reiniciar el tratamiento una vez conseguida la cicatrización ósea.

1.7.4 CTXs (C-telopéptido reticular en suero)

Es un biomarcador de la reabsorción ósea que durante años se ha utilizado como factor predictor del desarrollo de la osteonecrosis por bifosfonatos para la toma de decisiones a la hora de realizar tratamientos dentales en este tipo de pacientes⁷¹. En un estudio de Marx en 2007, se observó el CTXs en ayunas para correlacionar sus valores con la duración del uso

de bifosfonatos orales y demostrar si el aumento de su valor podía indicar una recuperación en la remodelación ósea al suspender el bifosfonato por vía oral. Una estratificación del riesgo relativo fue determinado según los valores obtenidos, un CTX menor de 100 pg/ml representaba alto riesgo, un CTX entre 100 pg/ml y 150 pg/ml representaba riesgo moderado, y un CTX por encima 150 pg / ml representaba un riesgo mínimo. Los valores de CTX aumentaban entre 25,9 pg/ml a 26,4 pg/ml por cada mes de descanso de los bifosfonatos, lo cual indicaba una recuperación de la remodelación ósea y una directriz en cuanto a cuándo se podían realizar los procedimientos quirúrgicos orales necesarios con el menor riesgo. Además, se observó que en los periodos de supresión del fármaco asociados con valores de CTX, estos se elevaban por encima del umbral de 150 pg/ml, lo cual coincidía con una cicatrización ósea espontánea o una mejor respuesta a la curación completa tras el desbridamiento⁶⁸.

Tras años de investigación, un metaanálisis de 9 estudios controlados no reveló diferencias significativas en los valores medios de CTXs entre los pacientes con MRONJ y los controles (diferencia media, -31.417; 95 % intervalo de confianza [IC] , -91,560 a 28,726 ; P = .306). Además, un segundo metaanálisis de 4 estudios tampoco mostró diferencias significativas en el riesgo de osteonecrosis con valores de CTX por debajo de 150 pg/ml para los pacientes con MRONJ en comparación con los controles (risk ratio , 1.892 ; IC del 95 % , 0,636-5,626 ; p = .251)⁷¹.

El término **“Holiday Drugs”** aparece recientemente como medida preventiva cuando debe realizarse algún tratamiento odontológico de riesgo, o tras la aparición de la osteonecrosis para mejorar su curación. Existen varias propuestas sin un consenso claro acerca de los tiempos de supresión de los bifosfonatos (Tabla 3)⁷².

Los pacientes oncológicos se benefician en gran medida de los efectos terapéuticos de los bisfosfonatos por el control del dolor óseo y la incidencia de fracturas patológicas. La interrupción de los bifosfonatos IV no ofrece beneficios a corto plazo. Sin embargo, si las condiciones sistémicas lo permiten, la suspensión a largo plazo puede ser beneficioso en la estabilización de las zonas afectadas por MRONJ, lo que reduce el riesgo de desarrollo de la

necrosis a otras localizaciones y minimiza los síntomas clínicos^{63,64}. Es muy importante el papel del oncólogo para la valoración de los riesgos y beneficios de suprimir el tratamiento. Respecto a la interrupción del tratamiento con bisfosfonatos orales en pacientes con MRONJ, sí se ha demostrado una mejora gradual en la enfermedad⁶⁸. La interrupción de los bifosfonatos orales durante 6-12 meses puede favorecer la curación ya sea tras la retirada de un secuestro óseo o tras el desbridamiento. La decisión de suprimir el fármaco debe valorarse por su médico y el paciente siempre que las condiciones sistémicas lo permitan.

TIEMPO DE TRATAMIENTO A BIFOSFONATOS SEGÚN VÍA DE ADMINISTRACIÓN		
	ORAL	INTRAVENOSO
ASBMR	No hay protocolo específico	No hay protocolo
AAOMS	Menos de 3 años de duración: Sin cambios en la dosificación Menos de 3 años de duración y corticoides Suprimir: 3 meses antes Más de 3 años de duración: suprimir: 3 meses antes	No hay protocolo
CCPG	No hay protocolo específico	Suprimir 3-6 meses antes Recomendación: curación completa
Mayo Clinic	No hay protocolo	Suprimir 1 mes antes Recomendación: curación completa
MFA	No hay protocolo	Suprimir 2-3 meses antes Recomendación: 2-3 meses después o tras a curación completa

Tabla 3: Propuestas en las pautas de supresión de los bifosfonatos ⁷²

2. BIFOSFONATOS

2.1 HISTORIA

Las primeras publicaciones completas sobre los efectos biológicos de los difosfonatos, posteriormente llamados bifosfonatos, aparecieron en 1969.

Los bisfosfonatos son análogos químicamente estables del pirofosfato inorgánico (PPi), y fueron estudios sobre el rol del PPi en el control de los tejidos blandos y la mineralización del esqueleto, que llevó a la necesidad de encontrar inhibidores de la calcificación que lo harían resistir la hidrólisis por la fosfatasa alcalina.

La observación de que el PPi y los bifosfonatos (BF) no sólo podrían retardar el crecimiento sino también la disolución de los cristales de hidroxiapatita fue lo que impulsó estudios sobre su capacidad para inhibir la reabsorción ósea. Aunque el PPi no fue capaz de hacer esto, los bifosfonatos resultaron ser inhibidores muy eficaces de la reabsorción ósea, tanto in vitro como in vivo en sistemas experimentales, y, finalmente, en los seres humanos.

A medida que fueron estudiados y sintetizados los bifosfonatos más potentes, se hizo evidente que los efectos físico-químicos fueron insuficientes para explicar sus efectos biológicos, por lo que se pensó que también tenían efecto sobre la actividad celular. A pesar de muchos intentos, no fue hasta la década de 1990 que fueron aclaradas sus acciones bioquímicas⁷³

2.2 DEFINICIÓN

Los bifosfonatos son análogos no metabolizables del pirofosfato que se depositan en los huesos y previenen o mejoran las complicaciones esqueléticas de los pacientes con alteraciones óseas. Los diferentes bisfosfonatos, aprobados para uso clínico, difieren en función de las alteraciones estructurales de la denominada cadena lateral R-2. Estas cadenas laterales R-2 determinan los efectos celulares y eficiencias en la inhibición de la reabsorción ósea⁷⁴. Una vez depositado sobre la superficie del hueso, los bifosfonatos se internalizan por los osteoclastos, causando la interrupción de la reabsorción ósea. También tienen propiedades antiangiogénicas, ya que reducen los niveles circulantes del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)⁷⁵⁻⁷⁹ y efectos antineoplásicos⁸⁰. Tienen poca absorción intestinal y se excretan sin metabolizar por los riñones.

Hasta el 2001, el pamidronato (Aredia®) era el único fármaco aprobado en Estados Unidos para el tratamiento de las metástasis óseas. En 2002, la FDA (Us Food and Drug Administration)⁸¹ aprobó el ácido zoledrónico (Zometa®) como tratamiento para estos pacientes. Actualmente, la trasfusión anual de zoledronato (Reclast®) junto con la formulación parenteral de ibandronato (Bonviva®) administrada cada 3 meses ha sido aprobada por la FDA para el tratamiento de la osteoporosis⁸².

En 2003, a partir de los artículos de Marx¹² y Ruggiero²⁵, donde se reconocen y notifican los casos de exposición ósea sin cicatrización en la región maxilofacial en pacientes tratados con bifosfonatos intravenosos (IV) y, tras múltiples publicaciones posteriores, en septiembre de 2004, Novartis el fabricante del pamidronato (Aredia®) y el ácido zoledrónico (Zometa), añadió al etiquetado de estos productos las complicaciones derivadas del tratamiento, con el fin de alertar a los profesionales sanitarios el desarrollo de osteonecrosis de los maxilares⁸³.

2.3 TIPOS DE BIFOSFONATOS

Según su estructura química se clasifican en dos grupos.

2.3.1 No-Nitrogenados

Son muy parecidos al pirofosfato natural como son el etidronato o clodronato que contienen los grupos CH₃ y CL en lugar de la cadena R₂ y un anillo libre de nitrógeno como el tiludronato. Son metabolizados por macrófagos en análogos tóxicos de adenosine triphosphato (ATP) ⁸⁴.

2.3.2 Nitrogenados

Son los que presentan mayor potencia como el zoledronato y pamidonato, con un átomo primario de nitrógeno básico con una cadena alquil. Tienen una potencia entre 10-100 veces mayor que los no nitrogenados. El mevalonato inhibe la ruta del colesterol a través de la enzima farnesil difosfato sintetasa⁸⁴.

Hay una gran variedad de bisfosfonatos aprobados para uso clínico en los Estados Unidos (Tabla 4).

A) Bifosfonatos intravenosos

Se estima que más de 2,8 millones de pacientes de cáncer en todo el mundo han recibido tratamiento con bisfosfonatos intravenosos desde su introducción⁸⁵.

A1. Pamidronato (Aredia): bisfosfonato de segunda generación que se administra cada 3 ó 4 semanas a una dosis de 90 mg.

A2. Ácido zoledrónico (Zometa): bisfosfonato de tercera generación, administrado cada 3 ó 4 semanas a una dosis de 4 mg.

Es un imidazol heterocíclico y hasta ahora el más potente bisfosfonato administrado en los seres humanos. En un ensayo sobre la reabsorción ósea in vitro utilizando calotas ratón, el zoledronato fue al menos 100 veces más potente que el pamidronato. Además, en el modelo

animal in vivo de la hipercalcemia inducida por calcitriol en ratas tiroparatiroidectomizadas, fue 850 veces más activo que el pamidronato y más de 4 veces más potente que el clodronato. De todos los bisfosfonatos clínicamente evaluados, es el que tiene la mayor relación terapéutica entre la inhibición deseada de la reabsorción ósea y la inhibición no deseada de la mineralización ósea; además varios estudios de toxicología demuestran que el compuesto es seguro⁸⁶.

B) Bifosfonatos orales

Debido a su eficacia clínica demostrada, se consideran terapia de primera línea en el tratamiento de la osteoporosis y son los agentes antireabsortivos más prescritos.

B1. Alendronato (Fosomax): 70 mg una vez a la semana durante el tratamiento de la osteoporosis o menos si se está prescrito para la prevención de la osteoporosis.

Se ha demostrado en la prevención de la pérdida ósea en la columna y la cadera en las mujeres menopáusicas y en la reducción de fracturas en estos sitios en aproximadamente un 50%^{87,88}.

B2. Risedronato (Actonel): 35 mg una vez por semana.

En un ensayo prospectivo de amplia muestra, el risedronato produjo una reducción del 30% en las fracturas de cadera^{89,90}.

B3. Ibandronato (Boniva): es el más reciente aprobado por la FDA (marzo de 2005) para el tratamiento de la osteoporosis y se dosifica en un régimen mensual.

B4. Etidronato (Didronel): pautado en la Enfermedad de Paget en dosis de 300-750 mg al día durante 6 meses.

B5. Tiludronato (Skelid): pautado en la Enfermedad de Paget en dosis de 400mg al día durante 3 meses.

Nombre Genérico	Nombre Comercial	Fabricante	RP	FDA-a
Pamidronato	Aredia, IV	Novartis	100	1991
Tiludronato	Skelid, VO	Sanofi	10	1997
Alendronate	Fosamax, VO	Merck	1.000	1997
Etidronato	Didronel, VO	Proctor & Gamble	1	1997
Risedronato	Actonel, VO	Proctor & Gamble	5.000	1998
Ácido Zoledrónico	Zometa, IV	Novartis	100.000	2001
Ibandronato	Bonviva, VO	Roche	10.000	2005

Tabla 4: Bifonatos aprobados por los Estados Unidos



2.4. INDICACIONES

Uno de los primeros usos de los bifosfonatos a nivel médico data del año 1974, donde se utilizaba el etidronato en el tratamiento de la Enfermedad de Paget ya que inhibía el crecimiento y la disolución de cristales de fosfato de calcio in vitro⁹¹.

También se han estudiado para el tratamiento de la patología cardiovascular demostrando que reducen la calcificación de la pared vascular aunque no tengan efectos sobre la rigidez arterial. Por lo tanto, pueden reducir el riesgo de mortalidad en estos pacientes.⁹²

2.4.1 Bifosfonatos Intravenosos

Están aprobados para pacientes con cáncer de mama metastásico, mieloma múltiple, hipercalcemia maligna y la Enfermedad de Paget, así como para el tratamiento de las metástasis óseas documentadas de cualquier tumor.

2.4.2 Bifosfonatos Orales

Utilizados para el tratamiento de la osteoporosis aunque en ocasiones también se utiliza en la osteopenia⁸² y para el tratamiento de la Enfermedad de Paget y la osteogénesis imperfecta en niños^{93,94}. Además, en ocasiones, la osteoporosis puede surgir en el contexto de otras enfermedades tales como la enfermedad inflamatoria intestinal o la cirrosis biliar primaria, inducidas por medicamentos como los esteroides, o como consecuencia del envejecimiento después de la menopausia ^{95,96}.

2.5. METABOLISMO

Los bifosfonatos tienen una vida media que oscila entre los 30 minutos y las 2 horas y se depositan en los sitios de mayor metabolismo óseo, pudiendo permanecer aproximadamente 10 años a nivel óseo. Su mayor concentración se encuentra en la orina y la saliva, y sus efectos adversos más frecuentes son la insuficiencia renal y la osteonecrosis⁹⁷⁻⁹⁹. La dosis acumulativa, descrita por Maerevoet, es de 72 mg a los 18 meses^{97,100}.

En el caso de los bifosfonatos intravenosos como el ácido zoledrónico, el 40% se excreta por la orina de forma inalterada tras las 24 horas¹⁰¹, y el 60% restante se une a nivel óseo por la gran afinidad a la hidroxiapatita. Este fenómeno ocurre en las zonas de mayor remodelación ósea, donde el recambio periódico produce la excrección renal del bifosfonato inalterado tras una larga fase de eliminación¹⁰². La vida media de esta segunda fase de eliminación puede durar meses o años dependiendo de la duración de tratamiento con el bifosfonato¹⁰³.

La excreción de los bifosfonatos orales también ha sido estudiada, por ejemplo, en un estudio en ratas, donde tras la administración de risendronato por vía oral, se determinó que el 80% del fármaco se excretaba por vía renal 12 horas tras la administración del mismo. Además el estudio concluía que tomar el bifosfonato oral con agua mineral que contenga cantidades elevadas de calcio y magnesio disminuye el efecto de fármaco; por tanto, aconseja tomarlo justo al despertarse y además en posición vertical¹⁰⁴. Estos mismos autores ya describieron el efecto del agua en combinación con la toma del alendronato.¹⁰⁵

2.6. DETECCIÓN DE BIFOSFONATOS

La concentración de bifosfonato en una localización ósea concreta depende de la velocidad de remodelación ósea y la circulación sanguínea¹⁰⁶. Es importante conocer la concentración de bifosfonato acumulado en el hueso para entender su efecto farmacológico a largo plazo y su toxicidad. Actualmente numerosos autores han podido cuantificar estos fármacos en plasma y orina a través de la espectrometría de masas, la cual necesita un proceso previo de derivatización que permite convertir los bifosfonatos en sustancias más hidrofóbicas para poder ser estudiadas^{107,108}.

El desarrollo de métodos de análisis para la detección de los bifosfonatos en matrices biológicas es difícil debido a las propiedades químicas de estos compuestos. La detección de los bifosfonatos en matrices biológicas humanas plantea numerosas dificultades y por ello hay descritas una amplia gama de técnicas analíticas, tales como la cromatografía de gases¹⁰⁹, la cromatografía de iones¹¹⁰, electroforesis capilar, espectrometría de masas de ionización por electrospray¹¹¹, y la cromatografía de líquidos¹¹².

2.6.1 Espectrometría de Masas (EM)

Se ha propuesto una metodología de extracción y detección de ácido zolédronico en orina y plasma sanguíneo o incluso acumulado en hueso (en un modelo de ratón) mediante una combinación de las técnicas de cromatografía y espectrometría de masas (EM)^{107,113}.

En estos estudios se detectó una acumulación mayor de bifosfonatos en extractos óseos de mandíbula respecto a otros tipos de hueso¹¹³. Por su parte, en orina y plasma sanguíneo humano detectaron un pico de concentración máxima del fármaco de 77 μM (tras 5 horas de la administración) y de 1.5 μM (tras 1 hora) respectivamente¹⁰⁷. Esta metodología consigue alta sensibilidad y especificidad en la detección, sin embargo, requiere un tratamiento previo de la muestra bastante complejo y laborioso que implica etapas con reacciones químicas para la derivatización del compuesto. Esta complejidad del tratamiento de la muestra puede ser un factor limitante cuando se requiere analizar un número de muestras elevado, como sería el caso del seguimiento de la farmacocinética y biodisponibilidad de ácido zolédronico desde

su administración. Por esta razón, sería deseable disponer de un método alternativo más eficiente para detectar este fármaco.

2.6.2 Espectrometría de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

La espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) es una herramienta de utilidad en quimiometría que puede utilizarse para la caracterización de mezclas simples o complejas de origen muy diverso y proporcionar resultados cuantitativos. Existe una gran variedad de aplicaciones "ómicas" de la RMN tales como la *metabonomica*, *metabolómica*, *proteómica*, *transcriptómica*, *fluxómica*, *foodómica*, *lipidómica*, fermentanómica, isotopómica, etc. Una de las áreas con gran impacto en biomedicina es la metabolómica por RMN para el estudio de metabolitos en diversos tipos de muestra tales como biofluidos (orina, saliva, plasma sanguíneo, suero sanguíneo, sudor, etc.), extractos de tejidos, fluido cerebro espinal, células, etc. La metabolómica por RMN puede utilizarse para encontrar biomarcadores para el estudio, diagnóstico y pronóstico de enfermedades. Asimismo, puede complementar muchos de los análisis tradicionales a nivel clínico ya que, el coste por muestra, tiempo de análisis (medida) y generación de resultados (con automatización), es o puede llegar a ser competitivo si se manejan grandes lotes de muestras. Existen un número de patologías para las que el estudio por RMN de biofluidos o tejidos ha encontrado biomarcadores de utilidad^{114,115}. Un caso relevante de aplicación de RMN en esta área, es la cuantificación de lipoproteína en suero/plasma sanguíneo. La RMN ofrece detalles sobre la abundancia relativa de las diferentes subclases de lipoproteínas que no son accesibles a los análisis tradicionales^{116,117}.

Es una técnica cuantitativa que permite determinar la concentración absoluta de sustancias en disolución en general, incluyendo a los biofluidos. Se basa en el hecho de que la intensidad de una señal en el espectro de RMN es proporcional a la concentración de la molécula (o metabolito) que genera esa señal. Como dato aproximado, para orientarnos sobre la sensibilidad de esta técnica, en un espectrómetro actual con imán de 11.7 T, la concentración mínima requerida para detectar una molécula en un espectro monodimensional (1D) de ^1H (espectro de protón como se le llama comúnmente en el argot), y con un tiempo de medida de unos 15 minutos, debe ser como mínimo del orden de $10\mu\text{M}$.

Para el caso de muestras de orina, bajo estas condiciones de medida, se consigue identificar y cuantificar del orden de 50 a 60 metabolitos en su espectro de protón (Figura 2).

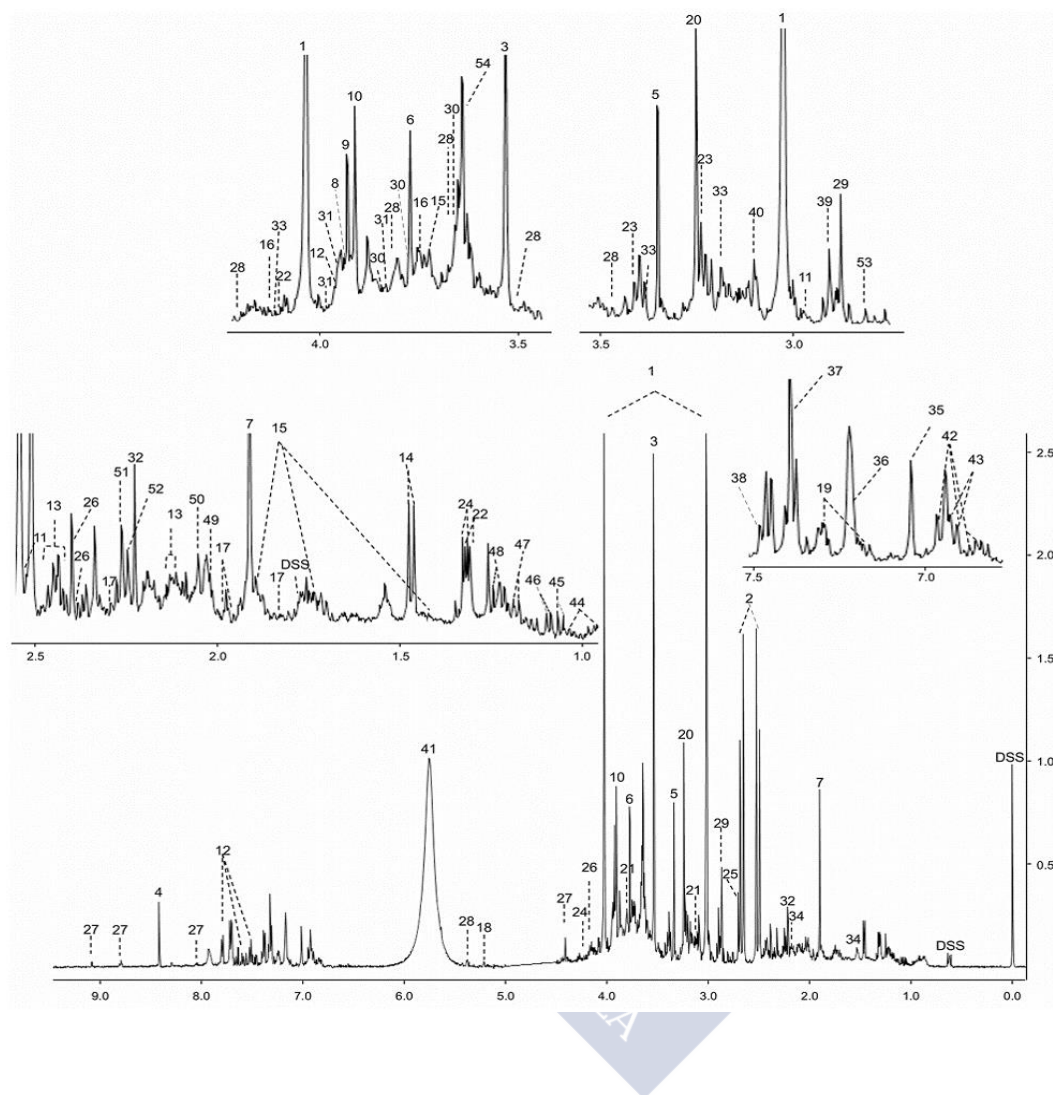


Figura 2. Espectro típico de ^1H RMN de una muestra de orina humana. Los números indican los siguientes metabolitos: 1: creatinina, 2: ác. cítrico, 3: glicina, 4: ác. fórmico, 5: metanol, 6: ác. guanidoacético, 7: ác. acético, 8: L-cisteína, 9: ác. glicólico, 10: creatina, 11: ác. isocítrico, 12: ác. hipúrico, 13: L-glutamina, 14: L-alanina, 15: L-Lisina, 16: ác. glucónico, 17: ác. 2-hidroxiglutarico, 18: D-glucosa, 19: indoxil sulfato, 20: trimetil-N-óxido, 21: etanolamina, 22: ác. L-láctico, 23: taurina, 24: L-treonina, 25: dimetilamina, 26: ác. piroglutámico, 27: trigonelina, 28: sacarosa, 29: trimetilamina, 30: manitol, 31: L-serina, 32: acetona, 33: L-cistina, 34: ác. adípico, 35: L-histidina, 36: L-tirosina, 37: imidazol, 38: ác. mandélico, 39: dimetilglicina, 40: ác. cis-aconítico, 41: urea, 42: ác. 3-(3-hidroxifenil)-3-hidroxiopropanoico (HPHPA), 43: fenol, 45: ácido isobutírico, 46: ácido metilsuccínico, 47: ác. 3-aminoisobutírico, 48: L-fucosa, 49: ác. N-acetilaspártico, 50: N-acetilneuramínico, 51: ác. acetoacético, 52: ác. alfa-aminoadípico, 53: metilguanidina, 54: fenilacetilglutamina¹¹⁸.

Cuando se desea comparar una serie de espectros de RMN de muestras complejas como pueden ser las de orina, es importante pararse en algunos detalles sobre el post-procesamiento de los espectros y el proceso de obtención cuantitativa de éstos, de forma que no se introduzcan errores en esta etapa y los resultados cuantitativos a los que se llegue sean lo más preciso y reproducible posible. Aunque con ligeras variaciones sobre algunos detalles, el método general de tratamiento de la información espectral para los estudios de metabonomía por RMN es el que brevemente se describe a continuación.

2.6.2.1 Preparación de la muestra de un biofluido

Se han establecido una serie de protocolos de preparación de muestras de biofluidos y su posterior conservación hasta la medida de RMN^{119,120}. Igualmente, existen protocolos sobre parámetros experimentales a utilizar en la medida de espectros de RMN de cada tipo de biofluido^{119,120}. Estos protocolos estandarizan las medidas y así facilitan la comparación de los espectros obtenidos con los de espectrotecas de RMN (por ej. Human Metabolome Database: www.hmdb.ca) y/o con resultados de bibliografía. Normalmente los protocolos de preparación de muestra son bastante simples y no requieren equipamiento especial en el laboratorio.

Generación de una matriz de datos de intensidad de señal (integrales) en Regiones de Interés (ROIs) del espectro de RMN

Los datos crudos que proporciona un espectrómetro cuando se mide un espectro de ¹H RMN se denomina FID (Free InductionDecay). Estos datos deben ser post-procesados aplicando una serie de operaciones para generar un espectro final con una escala de frecuencias (expresada según unidades estandarizadas de ppm) y con la mejor calidad posible¹²¹. Completado el post-procesado de cada uno de los espectros de las muestras a estudiar, la siguiente etapa consiste en comparar regiones análogas del espectro de las diferentes muestras con el objetivo de encontrar, si fuera posible, alguna región que pueda servir como biomarcador, esto es, alguna región en la que el patrón de intensidad de señal sea significativamente diferente entre muestras del grupo de control y del grupo experimental, a la vez que similar dentro del propio grupo.

En lugar de elegir manualmente una o varias regiones para comparar, lo más habitual y práctico es proceder de forma sistemática dividiendo de manera automática todo el espectro, de derecha a izquierda, a través de una serie de pequeñas regiones segmentales (por ej. cada una con un ancho fijo) en las que se integra individualmente el área de la señal. A cada una de estas regiones se le denomina “pocillo” (del inglés “bucket”) o “ROI” (“Regiones De Interés” del inglés “Region Of Interest”). De esta forma un espectro completo va a quedar representado como un vector de datos formado por las integrales de las ROIs seleccionadas, con tantos valores de integral como segmentos se haya dividido el espectro completo.

Finalmente, se construye una tabla de datos poniendo los vectores de cada una de las muestras analizadas en filas diferentes (Figura 3). Existen herramientas de software que permiten automatizar estas operaciones para generar la tabla de datos, así como para la etapa previa del post-procesado.

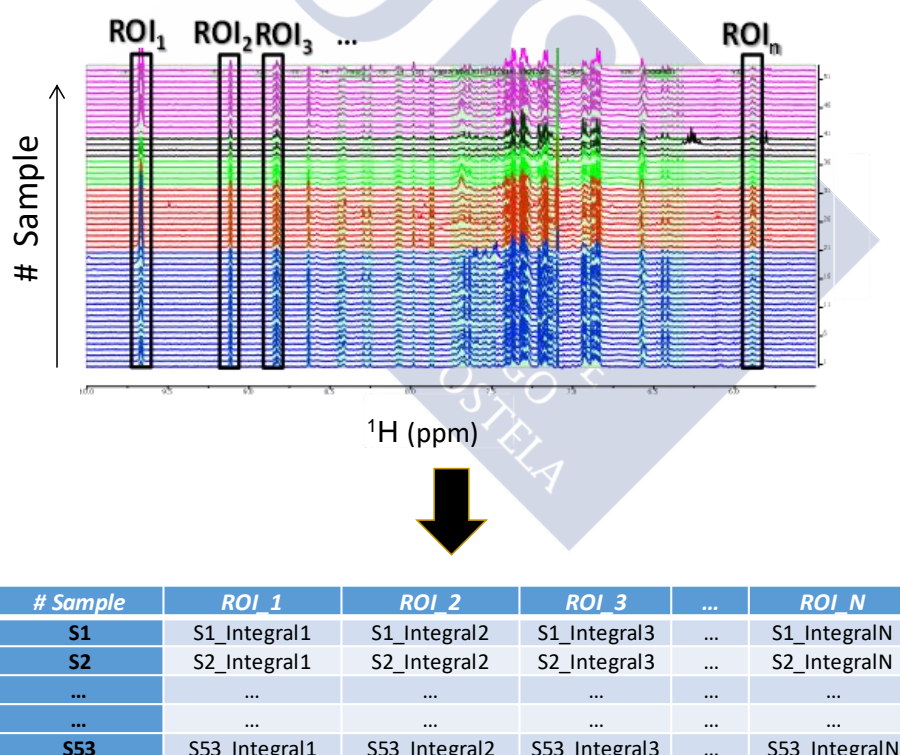


Figura 3. Esquema de la construcción de la Matriz de datos de ROIs de RMN a partir de 53 espectros de RMN. (Arriba) 53 espectros de ^1H apilados en los que se han seleccionado algunas ROIs para la integración de la señal. La escala vertical del apilamiento identifica cadauna de las muestras (# sample). Se ha utilizado el mismo color para identificar muestras que deben ser del mismo tipo conocidas a priori. (Abajo) Matriz de datos de ROIs de RMN obtenida por la integración de cadauna de las ROIs.

2.6.2.2 Normalización de datos de la Matriz de ROIs

De los valores de integral ROI de la matriz, inicialmente se purgan de valores negativos ya que contienen únicamente ruido (un ROI debe tener como mínimo un valor de integral o área de señal igual a cero).

El proceso de normalización de los datos ROIs tiene por objeto llevar todas las muestras analizadas a una concentración “virtual” constante que elimine en las integrales ROIs el hecho de que puedan haber diferencias de concentración global entre las muestras, simplemente por el hecho de que la orina contenga originalmente una mayor o menor cantidad de disolvente H_2O . Cuando se elimina el efecto de la dilución, las diferencias en los valores de una misma ROI para una pareja de muestras ya sí que reflejan directamente variaciones en la concentración relativa del metabolito en cuestión.

Método de normalización de cada fila ROI a suma constante.

Un primer método de normalización consiste en hacer que la suma total de ROIs sea constante. Este método contempla que la suma total de todas las ROIs de un mismo espectro tenga un valor constante, y que además éste sea igual para todas las muestras. Se trata de un tipo de normalización por filas de la matriz que consiste en dividir cada valor de ROI por la suma total de todas las ROIs de su misma fila. Esto da como resultado que las ROIs normalizadas de una muestra sumen la unidad.

Método de normalización ProbabilisticQuotient^{122,122}

Consiste en utilizar los datos de ROIs de una cierta muestra del conjunto (una fila de la matriz) y dividirlos por los de otra muestra que se toma como referencia. Esto permite deducir el factor de multiplicación más probable para que los ROIs de la primera muestra sean lo más parecido posible a los de la muestra de referencia. Se calcula así el factor de multiplicación más probable en particular para cada muestra (para cada fila de la matriz). Como resultado de aplicar cada factor sobre los ROIs de la muestra correspondientes, sus ROIs quedan normalizados como si la muestra se hubiera preparado a la misma concentración que en la muestra de referencia.

2.6.2.3 **Án**alisis estadístico de la Matriz de ROIs de RMN

La Matriz de datos ROIs normalizada se analiza con métodos estadísticos multivariante para identificar las ROIs que contengan patrones similares/diferentes de integral para muestras del mismo/diferente grupo y así los potenciales biomarcadores. Se utiliza para ello algoritmos tales como PCA (Análisis de Componentes Principales), DA (Análisis Discriminante) y OPLS-DA (Mínimos Cuadrados Parciales- Ortogonales- Análisis Discriminante). Estos algoritmos se encuentran implementados en diversos paquetes de software estadístico de propósito general, por ej. R, SPSS o XLSTAT, entre otros.

En casos favorables se identifican una o varias ROIs con potenciales biomarcadores relacionados con la propiedad que se investiga, por ejemplo, efecto de cierto tratamiento médico, un tipo de dieta, una enfermedad, etc.. Se pueden plantear entonces objetivos adicionales al estudio tales como identificar qué biomarcadores concretos (metabolitos) se alteraron respecto al grupo de control, para posteriormente tratar de averiguar por qué ruta metabólica sufrieron este cambio. Puede ocurrir también que alguno de los biomarcadores que se identifiquen como diferentes respecto al grupo de control no se corresponda con alguno de los típicamente encontrados en el tipo de biofluido en cuestión, sino que provenga del metabolismo de algún fármaco o dieta especial que haya sido administrada. En tal caso, una vez identificada su señal de RMN, se podría plantear hacer un seguimiento longitudinal sobre su aparición en el biofluido desde su administración.

2.7. MRONJ (Medication-related osteonecrosis of the jaw)

En la actualidad se han demostrado dos tipos de fármacos que aparte de los bifosfonatos, pueden producir necrosis de los maxilares.

A. Antirreabsortivos: Denosumab

Se trata de un anticuerpo monoclonal RANKL que actualmente aun está en ensayos clínicos para el tratamiento de la osteoporosis, el cáncer de hueso primario y metastásico, el tumor de células gigantes y la artritis reumatoide^{123,124}. El RANKL es necesario para la activación y la función de los osteoclastos maduros^{125,126}, que junto con la osteoprotegerina (OPG), mantiene un equilibrio de la reabsorción ósea en un estado saludable. Cuando se produce un desequilibrio en esta relación RANKL/OPG se favorece la reabsorción en enfermedades óseas^{127,128}.

El denosumab tiene una alta especificidad por el IgG2 humano que se une específicamente al RAN humano, y no a otros miembros de la superfamilia de TNF^{123,129,130}. En los ensayos clínicos, este fármaco provoca descensos rápidos y prolongados de los marcadores de recambio óseo sin un cambio en la formación ósea, lo que le otorga las características antirreabsortivas¹³¹. Además ha demostrado mejores resultados clínicos en comparación con los bifosfonatos en el tratamiento de la osteoporosis y el cáncer con mayor aumento de la densidad ósea y la supresión de los marcadores de remodelado óseo, con una eficacia demostrada incluso en pacientes previamente resistentes a los bifosfonatos^{124,132,133}.

Estos fármacos también producen osteonecrosis de los maxilares con una prevalencia del 0.7-19%^{134,135}, muy similar a la existente por tratamiento con bifosfonatos¹²⁴. A partir del primer caso de osteonecrosis maxilar publicado en 2010 por este fármaco²⁰¹⁰¹³⁶, se han publicado diversos estudios pero sólo uno de ellos describe las características histopatológicas¹³⁷. Los fragmentos de hueso necrótico presentaban lagunas osteocíticas vacías y ausencia de osteocitos, osteoblastos y osteoclastos. Los autores sugieren que estas características son muy similares a las asociadas a la osteonecrosis por bifosfonatos¹³⁸.

B. Antiangiogénicos:

Estos medicamentos obstaculizan el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos y bloquean la cascada de la angiogénesis¹³⁹.

B1. Bevacizumab: anticuerpos monoclonales que detienen el factor de crecimiento.

B2. Sunitinib y Sorafenib: inhibidores de la tirosina quinasa.



II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

JUSTIFICACIÓN

Es importante avanzar en la investigación de los efectos de estos fármacos ya que en la actualidad son cada vez más los pacientes consumidores de los mismos. Sobre todo, es necesario su control en el caso de las mujeres postmenopáusicas, ya que su prescripción es muy elevada y tanto los pacientes como los odontólogos, en ocasiones, no están informados de las complicaciones y precauciones a seguir una vez iniciado el tratamiento.

Deben realizarse historias clínicas muy detalladas, sobre todo en este perfil de paciente, ya que en ocasiones, ellos mismos desconocen su consumo. Los implantes dentales y las exodoncias son tratamientos rutinarios que precisan ser realizados con la certeza de que se reduce al máximo los factores de riesgo relacionados, y que el paciente tiene la información necesaria al respecto.

La falta de información hasta el momento, ha supuesto numerosos casos de osteonecrosis de los maxilares en la actualidad, muchos de ellos evitables con buenos protocolos de prevención y tratamiento una vez establecido.

Por ello, justificamos esta tesis doctoral en la cual se analizan los factores de riesgo asociados y cómo controlarlos, el papel de la flora bacteriana en el inicio y desarrollo de la osteonecrosis, así como su importancia a la hora de pautar su tratamiento antibiótico; y enfocando el futuro más inmediato, el estudio del metabolismo de los bifosfonatos ya que los marcadores de remodelación ósea como el CTX no han demostrado fiabilidad suficiente para definir los periodos de seguridad antes de la realización del tratamiento dental.

OBJETIVOS

1. Relacionar los factores de riesgo descritos con los presentes en los pacientes afectados por osteonecrosis, para así poder controlarlos y evitar su aparición.
2. Establecer un protocolo de prevención adecuado que nos permita monitorizar los pacientes para así evitar las complicaciones relacionadas con los bifosfonatos.
3. Justificar el tratamiento conservador descrito en la bibliografía, y demostrar que en la mayoría de los casos no es necesario el tratamiento quirúrgico.
4. Describir el patrón bacteriológico en las lesiones de osteonecrosis para así poder establecer la pauta de tratamiento antibiótico más adecuada y efectiva.
5. Detectar el bifosfonato en muestras de hueso y orina, para así conocer su metabolismo y poder entender mejor la fisiopatología de la osteonecrosis

III. HÍPOTESIS

1. La edad, el sexo, tipo de tumor y tratamiento médicos coadyuvantes al tratamiento con bifosfonatos son factores de riesgo en la aparición de la osteonecrosis
2. La prevención estableciendo protocolos adecuados antes, durante y después del tratamiento con bifosfonatos es esencial para disminuir la prevalencia de osteonecrosis por bifosfonatos.
3. El tratamiento conservador permite en la mayoría de casos controlar el desarrollo de dicha complicación lo cual evita el tratamiento quirúrgico.
4. La antibioticoterapia pautada a partir del antibiograma permite un plan de tratamiento más personalizado y efectivo debido a las numerosas resistencias en este tipo de pacientes.
5. El Actinomyces es una bacteria presente en las lesiones por osteonecrosis que puede promover su aparición y favorecer la resistencia al tratamiento.
6. Los bifosfonatos se acumulan a nivel óseo durante largos periodos de tiempo lo cual evita la resolución completa de la necrosis por la dificultad de obtener hueso sano a nivel de los maxilares.
7. Conocer el metabolismo y excreción de los bifosfonatos puede ayudarnos a establecer protocolos adecuados en la pausa del tratamiento en los casos que es inevitable realizar tratamiento odontológico.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

1. PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO

Todos los pacientes acudieron a nuestro Máster de Medicina Oral, Cirugía Oral e Implantología de la Facultad de Medicina y Odontología de Santiago de Compostela. Los pacientes venían derivados de la Unidad de Oncología del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (CHUS) para un examen dental previo al tratamiento con bifosfonatos intravenosos. Se incluyeron los pacientes durante un periodo de 7 años (2006-2013). El estudio fue aprobado por el Comité Ético del CHUS junto con el consentimiento informado de los pacientes (Anexo 1).

Seleccionamos 194 pacientes de los cuales 139 (71.6%) eran hombres y 55 mujeres (28.4%) con una media de edad de 68.91 años, con una desviación estándar de 11.69 y un rango entre 42 y 93 años.

Todos nuestros pacientes fueron tratados con Ácido Zoledrónico. Excluimos a los pacientes con antecedentes de tratamiento con radioterapia de cabeza y cuello. A todos ellos, se les realizó una historia médica completa con examen oral y de mucosas.

Se registraron datos sobre los factores de riesgo descritos como la edad, sexo, tipo de cáncer, tiempo de tratamiento, hipertensión, diabetes, uso de corticoides, tratamiento con quimioterapia y exodoncias previas, durante o después del tratamiento.

Además, se estableció un protocolo (Anexo 2) en el que mensualmente se complementaban datos sobre el estado dental y la evolución del paciente. El protocolo recogía información como el estado periodontal, presencia de caries o lesiones periapicales, uso y estado de prótesis removibles, higiene oral y presencia de exposiciones óseas o secuestros.

Todos los datos obtenidos fueron analizados mediante el sistema estadístico SPSS versión 20.0 para Windows. Las variables cuantitativas discontinuas o discretas se analizan mediante estadística descriptiva, expresando los resultados en forma de media, desviación estándar y tablas de frecuencia y porcentajes para las variables cualitativas. Para los estudios de asociación entre las variables se ha empleado el Chi Cuadrado, T de Student o Anova de un

Factor según condiciones de aplicación. Se consideran valores estadísticamente significativos aquellos cuya $p \leq 0.05$.

2. PAPEL BACTERIANO EN LA OSTEONECROSIS DE LOS MAXILARES

Seleccionamos 28 pacientes (16 hombres y 12 mujeres) con una edad media de 71.96 años, todos ellos atendidos en el departamento de Oncología del Complejo Universitario de Santiago de Compostela (CHUS). Fueron remitidos a la Unidad de Cirugía Oral e Implantología de la Facultad de Medicina e Odontología de Santiago de Compostela para un examen dental previo; así como para el seguimiento de las posibles complicaciones tras el tratamiento.

Se incluyeron todos los pacientes a tratamiento con bifosfonatos tanto orales como intravenosos, así como también los sometidos a tratamiento de radioterapia de cabeza y cuello en un periodo de 8 años (2006-2014). El criterio diagnóstico que seguimos fue el determinado por la AAOMS¹⁵ para los pacientes de bifosfonatos, mientras que para los pacientes de radioterapia se incluyeron aquellos que tenían exposición ósea de más de 8 semanas de evolución¹⁴⁰.

De manera retrospectiva, analizamos los resultados de las muestras histológicas así como también los cultivos bacteriológicos con su respectivo antibiograma. También incluimos variables referentes a la historia médica de los pacientes como el tipo de cáncer, los hallazgos clínicos, el tipo y duración de bifosfonato, el tiempo de tratamiento con radioterapia así como el tratamiento realizado tras la complicación.

Se enviaron al Departamento de Microbiología las muestras de los exudados de la zona de exposición ósea; las cuales se procesaron para tinción de Gram y se sembraron en medio líquido (caldo tioglicolato) y medios sólidos (agar-sangre y agar-chocolate para crecimiento de bacterias aerobias, agar Saboureaud para crecimiento de levaduras, y en agar-Schaedler para crecimiento de anaerobios). Las placas sembradas se incubaron 48 horas a 37°C en atmósfera de CO₂ y 72 horas en cámaras de anaerobiosis. La identificación de

microorganismos se hizo por el sistema Vitek 2 (Bio-Merieux. Marcy l'Etoile. France) y Microscam (Siemens. Erlangen. Germany) en el caso de aerobios y API-ANA (Biomeriex) en el caso de anaerobios. Las pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos se realizaron por el método e-test (AB biodisk) y se siguieron los criterios de interpretación del CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute).

Las biopsias de los secuestros óseos fueron enviadas al servicio de Anatomía Patológica donde se fijaron en formol tamponado al 10% e incluidas en parafina siguiendo el procesamiento habitual. Para su valoración, se tiñeron con hematoxilina/eosina, PAS y plata metenamina para visualizar las colonias de *Actinomyces*. La presencia de estas fue valorada semicuantitativamente en escasas, moderadamente abundantes o muy abundantes. Además, se valoró la presencia de inflamación aguda (cuando se observaron polimorfonucleares neutrófilos), igualmente cuantificada en tres grados: leve, moderada e intensa, y la presencia de inflamación crónica (indicada por la presencia de linfocitos y células plasmáticas)

Todos los datos obtenidos fueron analizados mediante el sistema estadístico SPSS versión 20.0 para Windows. Las variables cuantitativas discontinuas o discretas se analizan mediante estadística descriptiva, expresando los resultados en forma de media, desviación estándar y tablas de frecuencia y porcentajes para las variables cualitativas. Para los estudios de asociación entre las variables se ha empleado el Chi Cuadrado, T de Student o Anova de un Factor según condiciones de aplicación. Se consideran valores estadísticamente significativos aquellos cuya $p \leq 0.05$.

3. DETECCIÓN DE BIFOSFONATOS INTRAVENOSOS MEDIANTE RMN

En un inicio se planteó la detección del bifosfonato en los secuestros óseos extraídos de los pacientes afectados por osteonecrosis. Se trataba de un método experimental, ya que la bibliografía existente tiene más evidencia científica en los fluidos corporales (plasma y orina) y además utilizan otras técnicas más precisas pero a la vez mucho más complejas. El objetivo inicial, era encontrar un método más efectivo que nos permitiera cualificar y cuantificar la cantidad de bifosfonato por unidad de hueso, para así conocer su metabolismo y la dosis acumulada con el fin de encontrar un punto de estabilidad en el cual poder realizar con mayor seguridad tratamientos dentales en estos pacientes. Este objetivo, iba más enfocado a los pacientes a tratamiento con bifosfonatos orales, ya que no están tan comprometidos a nivel sistémico y es más viable la supresión del fármaco.

3.1 Estudio por RMN ^{31}P y ^1H de muestras de tejido óseo de pacientes tratados con ácido zoledrónico ó ácido ibandronico

Los espectros de RMN en estado sólido de muestras de tejido óseo se realizaron en un espectrómetro Varian Inova-750 (imán de 17.6 T, frecuencia de protón de 750 MHz). El espectrómetro está equipado con una sonda de RMN de sólidos de tipo BioMAS que utiliza rotores de 3.2 mm con capacidad para analizar un volumen de muestra sólida de hasta 22 μl . Los espectros de RMN en disolución de extractos de tejido óseo se midieron en un espectrómetro Bruker DRX-500 (imán de 11.7 T, frecuencia de protón de 500 MHz) utilizando una sonda de líquidos de tipo BBI que utiliza tubos convencionales de 5 mm. Para el procesamiento de los espectros se utilizó software MestreNova v10.0 (Mestrelab. Research S.L.).

RMN de sólidos.

Se midió el espectro de fósforo 1D ^{31}P CP-MAS en estado sólido de una muestra de tejido óseo de un paciente con cáncer de boca que tuvo largo tratamiento con bonviva (ác. ibandronico). Este espectro se comparó con el espectro análogo del propio fármaco bonviva

en forma de pastilla comercial y con el espectro de tejido óseo de paciente sano. Los espectros 1D ^{31}P CP-MAS se midieron con desacoplamiento de banda ancha de protón utilizando la secuencia SPINAL con un fieldstrength de 62.5 kHz durante la detección de la FID. El tiempo de contacto para la polarización cruzada fue de 3 ms. La velocidad de rotación MAS fue de 20 kHz. El espectro se midió en aprox. 1 hora utilizando 800 scans y un tiempo de espera entre scans (d_1) de 4s. Los desplazamientos químicos del espectro se referenciaron respecto a la señal de fósforo de una muestra de NaH_2PO_4 sólido a 1.12 ppm.

RMN en disolución.

Se midieron el espectro 1D de protón ^1H y el espectro de fósforo 1D ^{31}P de extractos acuosos de dos muestras óseas proveniente de dos pacientes que tuvieron largo tratamiento con ác. zoledrónico y ác. ibandrónico (bonviva), respectivamente. Las muestras se prepararon del siguiente modo: se realizó una extracción en un eppendorf mezclando 6 mg (o 14 mg) de hueso seco con 1 ml de H_2O . La muestra se agitó vigorosamente y tras la sedimentación se tomó un volumen de 500 μl del líquido sobrenadante que se transfirió al tubo de RMN. Finalmente se añadieron a este tubo 50 μl de D_2O para el lock del espectrómetro. Los espectros de ^1H se midieron con supresión fuerte de la señal intensa de disolvente H_2O utilizando un esquema watergate-DPFGSE. Se utilizaron 512 scans y 15 min. de medida. Los espectros ^{31}P se midieron con 5000 scans y ~4 horas de medida.

3.2 Estudio por RMN ^1H de muestras de orina de pacientes tratados con ácido zoledrónico

Las medidas de RMN en disolución de muestras de orina se realizaron en un espectrómetro Bruker DRX-500 (imán de 11.7 T, frecuencia de protón de 500 MHz). Este espectrómetro está acoplado a un cambiador de muestras con capacidad para 60 muestras. El proceso de ajuste de la homogeneidad de campo (shimming) y adquisición de espectros está completamente automatizado para manejar lotes de muestras proporcionando la máxima calidad y reproducibilidad. Se utilizó software MestreNovav10.0 (Mestrelab. Research S.L.), para el post-procesado de los espectros y para generar la Matriz de datos de ROIs de RMN.

La recogida, preparación de las muestras de orina para su medida por RMN y los parámetros experimentales de RMN utilizados siguieron el protocolo descrito por Beckoner¹¹⁹.

Se seleccionaron 16 pacientes del Servicio de Oncología del Complejo Hospitalario de Santiago de Compostela (CHUS) todos ellos a tratamiento con ácido zoledrónico de 4mg. Del total de pacientes, 7 de ellos eran hombres y 9 mujeres con edades comprendidas entre los 45 y 81 años. El motivo de tratamiento con Zometa fue metástasis por cáncer de próstata (4 pacientes), mama (6 pacientes), pulmón (2 pacientes) y mieloma múltiple (4 pacientes). La mayoría de pacientes eran polimedicados con tratamientos coadyuvantes a los bifosfonatos como los corticoides, tratamiento hormonal, quimioterapia o anticuerpos monoclonales (Anexo 3).

Se analizaron por RMN un total de 25 muestras de orina de un número de 16 pacientes. Las muestras se recogieron antes (12 muestras) y después (13 muestras) de la administración del bifosfonato. La orina previa fue recogida a las 10 am minutos antes de la trasfusión; y la orina posterior, al cabo de 1 o 2 horas, dependiendo del paciente, justo al finalizar el tratamiento intravenoso. A todos los pacientes se les administró la misma concentración de ácido zoledrónico (4mg en 100ml).

Preparación de muestras de orina para la medida de RMN

Un volumen de 200 μ l de muestra de orina del paciente se mezclaron en un eppendorf con 200 μ l de una disolución de PBS a pH 7.5. Se añadieron 150 μ l de H₂O y finalmente 50 μ l de una disolución stock que contiene D₂O (agua deuterada) y TSP (sal de sodio del ácido 3-(Trimetilsilil)- Propiónico deuterado). El TSP genera una señal en el espectro de RMN sirve como referencia interna de desplazamientos químicos ($\delta_{\text{TSP}} = 0$ ppm). Esta disolución stock de D₂O y TSP se preparó disolviendo 4 mg de TSP sólido en 6 ml de D₂O (grado de deuteración del 99.90 %). Tras la homogenización de la mezcla de orina en el eppendorf, el volumen total se transfirió a un tubo de RMN convencional de 5 mm de diámetro para su medida inmediata.

Medida del espectro de RMN de ^1H muestras de orina.

Para cada muestra de orina recién preparada se midió inmediatamente su espectro de RMN monodimensional (1D) de ^1H de cada muestra de orina utilizando la secuencia de ^1H watergate basada en DPGFSE (Double-Pulse-Field-Gradient-Spin-Echo) para la supresión de la señal intensa del H_2O en las muestras¹⁴¹. El espectro se adquirió en 8 minutos con 128 acumulaciones (scans) con 8 dummy-scans. El tiempo de espera entre acumulaciones sucesivas (d_1) y de adquisición de la FID fue de 2 y 1.63 s, respectivamente. La FID se adquirió con 16k puntos complejos. El centro del espectro se fijó a la frecuencia de la señal de H_2O a ~ 4.7 ppm. Para la supresión del disolvente con el esquema watergate-DPGFSE los pulsos selectivos de 180° se aplican a la frecuencia de la señal del H_2O con una duración de 2 ms y perfil de forma gaussiano. Los gradientes de cada bloque PFGSE tienen una duración de 1 ms y una potencia de 12 y 7 G/cm.

Post-Procesado de los espectros.

Cada espectro ^1H watergate-DPGFSE de las 25 muestras de orina se procesó de forma similar. Se aplicó llenado de ceros a 64 k puntos. Antes de la transformada de Fourier (FT) se aplicó una función exponencial para la apodización de la FID con anchura de línea (LB) de 2 Hz. Tras aplicar la transformada de Fourier se corrigió manualmente la fase y se corrigió automáticamente la línea base mediante función polinómica de orden tres. El espectro se referenció con la señal del TSP a 0 ppm. Los espectros post-procesados de las 25 muestras de orina se apilaron para el análisis. Se aplicó una operación manual de alineamiento global de los espectros para corregir pequeños movimientos de señales entre los diferentes espectros (debidos a efectos como diferencias de salinidad o a posibles interacciones intermoleculares entre metabolitos, etc.). El mejor alineamiento de señales se consiguió alineando de forma independiente la alineó de forma independiente las señales de la zona por encima y por debajo de la posición de la señal de H_2O a ~ 4.7 ppm. Se utilizaron como referencia para el alineamiento las señales más intensas de cada zona. Los espectros se alinearon uno a uno horizontalmente un pequeño número de puntos (usando la herramienta *adjuststackeditems*) hasta hacerlas coincidir estas señales lo mejor posible en todos los espectros.

Generación de la matriz de datos de ROIs de RMN.

En cada espectro se seleccionaron automáticamente las mismas ROIs. Las ROIs tienen una anchura de 0.04 ppm y barren sistemáticamente toda la zona del espectro entre 0.6 y 10.5 ppm (no hay señales fuera de esta zona). Para el análisis posterior, se eliminaron las ROIs en la zona entre 4.2 y 6.3 ppm por estar en las proximidades de la señal del disolvente H₂O que se suprime. De esta forma, se consideraron un total 193 ROIs para cada espectro de orina cuya área de señal es integrada individualmente. La matriz de datos de ROIs de RMN de las 25 muestras de orina analizadas tiene por tanto dimensiones 25 x 193.

Análisis estadístico de la matriz de ROIs de RMN

Los cálculos estadísticos con la matriz de ROIs normalizada se realizaron con el software IBM SPSS Statistics v20.

La matriz de ROIs de RMN, generada según se describe arriba para las 25 muestras de orina, se sometió inicialmente a un purgado de valores negativos. A continuación, se probaron dos métodos de normalización de la matriz que fueron: Normalización a *Suma de Fila Constante* y Normalización *Probabilistic Quotient*. Con cada método de normalización se realizó el resto del análisis estadístico de forma independiente.

Dado que se disponía de información *a priori* sobre cada una de las 25 muestras de orina analizada, en concreto si una muestra proviene del paciente antes o después del tratamiento con zolédronico, se incluyó esa información en la matriz de datos para establecer una clasificación por este parámetro. Por compatibilidad con el software SPSS se introdujo el dato de si una muestra corresponde a antes/después del tratamiento en un formato numérico de 0 y 1, respectivamente. Para la clasificación de las muestras se utilizó un algoritmo de Análisis Discriminante (DA) sobre la matriz de ROIs normalizados. Se utilizó como variable dependiente la columna del tipo de muestra. Se realizó una validación cruzada para evaluar los resultados de DA.

V. RESULTADOS

1. DE LOS FACTORES DE RIESGO:

Factores de riesgo locales: sólo tuvieron un riesgo estadísticamente significativo ($P>0.001$) los pacientes a los cuales se les realizaron exodoncias durante el tratamiento con bifosfonatos, así como también hubo una relación directa según el estado periodontal del paciente, ya que ningún paciente con salud periodontal desarrolló MRONJ ($P=0.001$). Como ya describe la literatura, se demostró que la mandíbula tiene mayor afectación que el maxilar superior, siendo también estadísticamente significativo ($P<0.001$)

Factores de riesgo sistémicos: No hubo diferencias significativas en cuanto al sexo ($P=0.063$). La edad no mostró diferencias significativas pero sí hubo más casos de osteonecrosis en pacientes de edad avanzada, probablemente por ser pacientes más comprometidos a nivel sistémico; de hecho, el 86,6% de ellos eran polimedicados. El tipo de cáncer, la hipertensión arterial y el tratamiento con quimioterapia o corticoides no mostró diferencias estadísticamente significativas a pesar de que la literatura los describe como factores de riesgo evidentes. Sólo pudimos concluir que los pacientes sin diabetes no desarrollaban MRONJ ($P=0.048$). En nuestro estudio no se analizó la raza, ya que el 100% de los pacientes eran de raza caucásica y de una población determinada. Como describe Wessel et al.²⁹ en su estudio, el 100% de nuestros pacientes padecía metástasis ósea lo que justifica el uso de bifosfonatos intravenosos y por lo tanto, un mayor riesgo de complicaciones.

Factores relacionados con el fármaco: en cuanto a la potencia, todos los pacientes fueron tratados con el mismo bifosfonato (Ácido Zoledrónico 4mg). La dosis acumulativa mostró que los pacientes de más de tres años de tratamiento tenían más riesgo de desarrollar MRONJ, siendo estadísticamente significativo ($P<0.001$) (Tabla 5)

Características	Total de pacientes con ONM(%)	Total de pacientes sin ONM (%)	P-value
Hombre	14 (7,2)	125 (64,4)	P= 0,063
Mujer	11 (5,7)	44 (22,7)	
Factor de Riesgo Sistémico			
Cáncer	12 (6,2)	95 (49)	P= 0,214
Próstata	9 (4,6)	34 (17,5)	
Mama	4 (2)	11 (5,7)	
Mieloma	0 (0)	18 (9,3)	
Pulmón	0 (0)	2 (1)	
Vejiga	0 (0)	5 (2,6)	P= 0,048
Colon	0 (0)	3 (1,5)	P= 0,139
Riñón	18 (9,3)	176 (90,7)	P= 0,704
Diabetes	168 (86,6)	26 (13,4)	P= 0,234
Polimedicados	94 (48,5)	100 (51,5)	P= 0,462
HTA	42 (21,6)	152 (78,4)	
Corticoides	65 (33,5)	129 (66,5)	
QTP			
Factor de Riesgo Local			
Extracción previa	8 (4,1)	86 (44,3)	P= 0,078
Extracción durante	5 (2,6)	1 (0,5%)	P < 0,001
Extracción después	4 (2)	7 (3,6)	P= 0,017
Prótesis	5 (2,6)	33 (17)	P= 0,936
Perio	19 (9,8)	70 (36)	P= 0,001
Factores tóxicos			
Tabaco	2 (1)	13 (6,7)	P= 0,998
Alcohol	3 (1,5)	19 (9,8)	
Localización			
Unifocal mandibular	13 (6,7)	-	P < 0,001
Unifocal maxilar	5 (2,6)	-	
Multifocal mandibular	3 (1,5)	-	
Maxilar y mandíbula	4 (2)	-	
Síntomas (dolor)	20 (10,3)	9 (4,6)	P < 0,001

Tabla 5. Factores de riesgo en la aparición de ONM

2. PAPEL BACTERIANO EN LA OSTEONECROSIS DE LOS MAXILARES

Resultados clínicos

De los 28 pacientes, 16 eran hombres (57.1%) y 12 mujeres (48.8%) con una medida de edad de 71.96 años (SD 8.94). Según los factores de riesgo analizados, 8 pacientes (28.5%) eran diabéticos, 15 (53.6%) estaban a tratamiento con quimioterapia, 4 (14.3%) eran fumadores, 1 (50%) hipertensos y 9 (32.1%) tomaban corticosteroides. El motivo de tratamiento con bifosfonatos era el cáncer oral (14.3%), cáncer mama (25%), cáncer de próstata (39.2%), mieloma múltiple (10.7%) y la osteoporosis (10.7%).

La región de la cavidad oral más afectada fue la mandíbula (67.8%) seguida del maxilar superior (21.4%) y la afectación de ambas (10.7%).

El grado de afectación fue variable según el tipo de tratamiento recibido. Los pacientes a tratamiento con bifosfonatos intravenosos presentaron todos los estadios de ONM, mientras que los pacientes con tratamiento oral solo presentaron estadio II y los pacientes tratados con radioterapia mostraron tanto estadio II (5%) como estadio III (75%).

Resultados histológicos

A 24 de los 28 pacientes se les realizó estudio histológico con toma de biopsia de una lesión de secuestro óseo. De ellos, en 21 (87,5%) se demostró la presencia de *Actinomyces* dentro de los 3 grados de osteonecrosis de los maxilares. La cantidad de *Actinomyces* presentes se cuantificó de manera semicuantitativa por parte del patólogo. El recuento del patógeno fue muy abundante en los grados I y II, mientras que en el grado III los pacientes presentaron cantidades menores de *Actinomyces*. (Figura 4, Tabla 6)

El grado de inflamación aguda y/o crónica también fue evaluado. En el 54,2% de los pacientes la presencia de *Actinomyces* no acompañaba ningún signo de inflamación; mientras que en resto de pacientes se observó que a medida que aumenta la edad, se incrementa la intensidad de la inflamación; siendo la media de edad más baja para la ausencia de inflamación (65,31; SD: 7,91) frente a la inflamación abundante (81,00; SD:

2,83). Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($F=5,270$, $p=0,005$). Existía inflamación aguda en el 37,5% de los pacientes siendo cuantificada como inflamación leve (2 pacientes), moderada (5 pacientes) y abundante (2 pacientes); estas dos últimas presentes en pacientes exclusivamente con grado II de osteonecrosis. Únicamente hubo 2 casos con inflamación crónica, un paciente con grado II y otro con grado III de ONM.

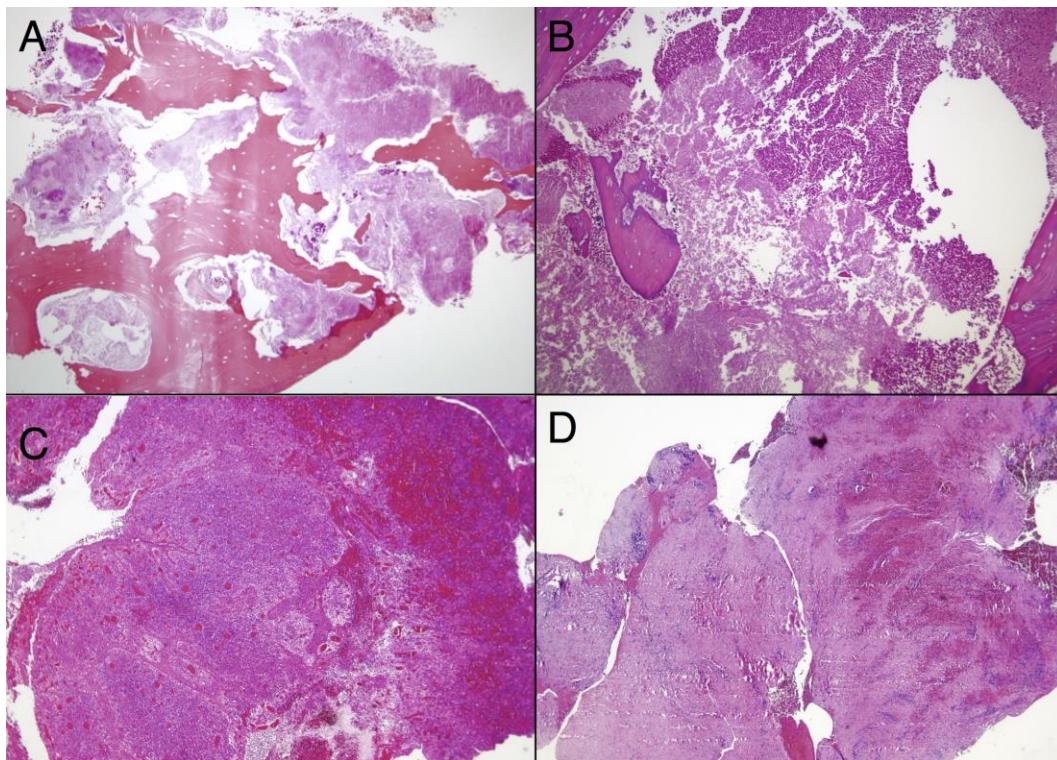


Figura 4. Imagen histológica de un secuestro óseo. El examen histopatológico reveló diferentes combinaciones de Actinomyces y la respuesta inflamatoria. Algunos casos demostraron abundantes colonias de Actinomyces, pero carecía de cualquier infiltración inflamatoria (A), mientras que en otros ejemplos; este microorganismo fue identificado junto con un denso infiltrado de PMN (B). PMN también fueron vistos en algunos casos, en ausencia de Actinomyces (C). Finalmente, en algunos pacientes, el único cambio consistía en la fibrosis y la respuesta inflamatoria escasa compuesto principalmente de linfocitos (D).

Grado	Actinomyces				Inflamación				
	Nulo	Poco	Moderado	Abundante	Nula	Leve	Moderada	Abundante	Crónica
I	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (8,3%)	2 (8,3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
II	0 (0%)	2 (8,3%)	8 (33,3%)	7 (29,1%)	8 (33,3%)	1 (4,1%)	4 (16,6%)	2 (8,3%)	1 (4,1%)
III	1 (4,2%)	1 (4,2%)	3 (12,5%)	0 (0%)	3 (12,5%)	1 (4,1%)	1 (4,2%)	0 (0%)	1 (4,1%)
Total	1 (4,2%)	3 (12,5%)	11 (45,8%)	9 (37,5%)	13 (54,2%)	2 (8,3%)	5 (20,8%)	2 (8,3%)	2 (8,3%)

Tabla 6. Relación del grado de ONM con la cantidad de Actinomyces y el tipo y cantidad de inflamación.

Se evaluó la relación entre la cantidad de Actinomyces presentes en las secciones histológicas con el grado de inflamación observado en los secuestros óseos. A pesar de no tener datos estadísticamente significativos, se observó que la elevada cantidad de Actinomyces podía desencadenar una respuesta inflamatoria tanto nula como abundante. (Tabla 7)

Actinomyces	Inflamación				
	Nula	Leve	Moderada	Abundante	Crónica
Nulo	0	0	1	0	0
Poco	1	0	1	0	1
Moderado	8	1	1	0	1
Abundante	4	1	2	2	0

Tabla 7. Relación de la cantidad de Actinomyces con la respuesta inflamatoria.

Resultados microbiológicos

Respecto al aislamiento de bacterias obtenido a través de la supuración de la zona necrosada, se registraron todas las bacterias descritas por el microbiólogo, las cuales se clasificaron según su metabolismo aeróbico o anaeróbico. Las bacterias aerobias se encontraron en su mayoría (85%) en los pacientes con grado I y II de ONM; siendo estadísticamente significativos ($p=0,002$). Sin embargo, las bacterias anaerobias estuvieron presentes en un 56% de los pacientes en los 3 estadios de ONM. A pesar de que la totalidad de los casos de grado III presentaron bacterias anaerobias este dato no fue estadísticamente significativo.

Prácticamente no hubo significación en las familias de especies bacterianas específicas a los diferentes grados de osteonecrosis, exceptuando el *Streptococcus* sp que fue muy abundante en el grado II de ONM. Únicamente 3 bacterias mostraron diferencias estadísticamente significativas en relación a los estadios de ONM. (Tabla8) (Figura 4)

	Grado I	Grado II	Grado III	P value
<i>Staphylococcus</i> sp	0	1	1	0,372
<i>Capnocytophaga</i> sp	2	1	0	0,008
<i>Morganella morganii</i>	0	1	0	0,817
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	1	2	0,037
<i>Streptococcus</i> sp	3	12	1	0,112
<i>Eikenella corrodens</i>	0	3	1	0,664
<i>Neisseria</i> sp	3	3	0	0,004
<i>Proteus</i> sp	0	1	0	
<i>Actinomyces</i> sp	2	3	0	0,003
<i>Veionella parvula</i>	0	0	2	0,817
<i>Peptoestreptococcus</i> sp	0	3	0	0,515
<i>Fusobacterium</i> sp	0	1	1	0,372
<i>Prevotella</i> sp	0	4	1	0,648
<i>Bacteoides</i> sp	0	2	0	0,655

Tabla 8. Relación del tipo de bacteria aislada con el grado de ONM

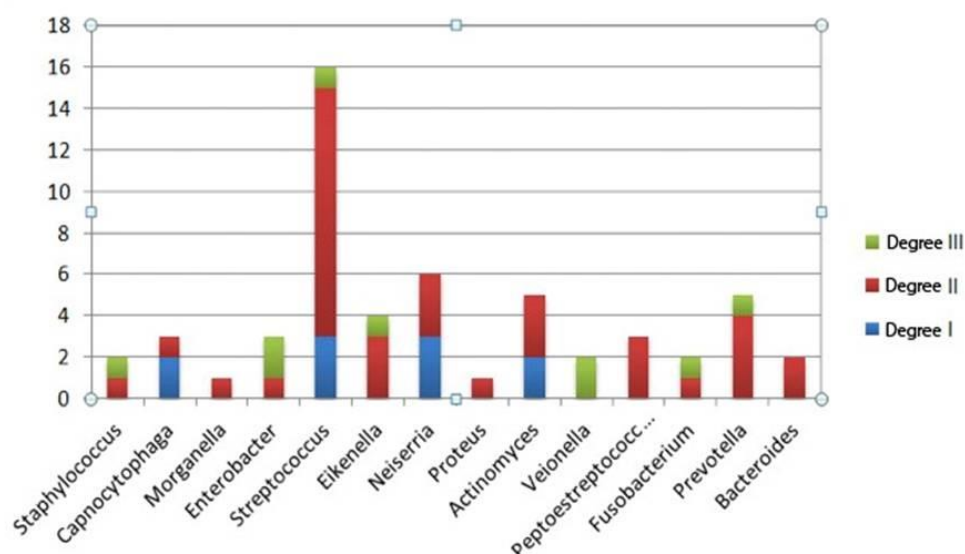


Figura 4. Relación del tipo de bacteria aislada con el grado de ONM

También se realizaron antibiogramas para cada una de las especies encontradas, con la finalidad de orientar la pauta antibiótica posterior de estos pacientes. Se estudiaron los 6 antibióticos más utilizados en la práctica habitual, así como los específicos para esta patología descritos por la literatura, y se observó un comportamiento bacteriano variable entre los pacientes con osteonecrosis de los maxilares.

La penicilina G no mostró sensibilidad completa en ningún paciente frente a todas las bacterias aisladas en los cultivos; además hubo mucha variabilidad entre pacientes en cuanto a la respuesta a este antibiótico. (Figura 5)



Penicillin G

■ No Result
■ Sensitive
■ Resistant
■ Sensitive + resistant

Bacteria	No Result	Sensitive	Resistant	Sensitive + resistant
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	1	0	0	0
<i>Bacteroides</i> spp	2	0	0	0
coagulase negative staphylococcus	0	1	1	0
<i>E. coli</i>	1	0	0	0
Enterobacter cloacae	1	0	0	0
<i>Escherichium</i> ventrum	0	1	0	0
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	0	1	1	0
<i>Neisseria</i> spp	0	1	1	0
<i>Peptostreptococcus</i> spp	1	0	0	0
<i>Prevotella melanogenica</i>	0	0	1	1
staphylococcus epidermidis	1	0	1	0
staphylococcus anginosus	0	1	1	0
<i>Streptococcus constellatus</i>	0	1	1	0
<i>Streptococcus</i> spp	0	1	1	0
<i>Yersinia parvula</i>	0	0	1	1

Bacteria

Figura 6. Antibiograma de la asoaciación de amoxicilina con ácido clavulánico

La clindamicina fue efectiva en el 40% de los pacientes y resistente en un 14,5%; en un 28% de los pacientes mostró variabilidad en la respuesta a este antibiótico. La azitromicina fue efectiva en pocos pacientes (38%) y además la respuesta fue muy variable, sin demostrar una sensibilidad completa frente las bacterias aisladas (Figura 7).

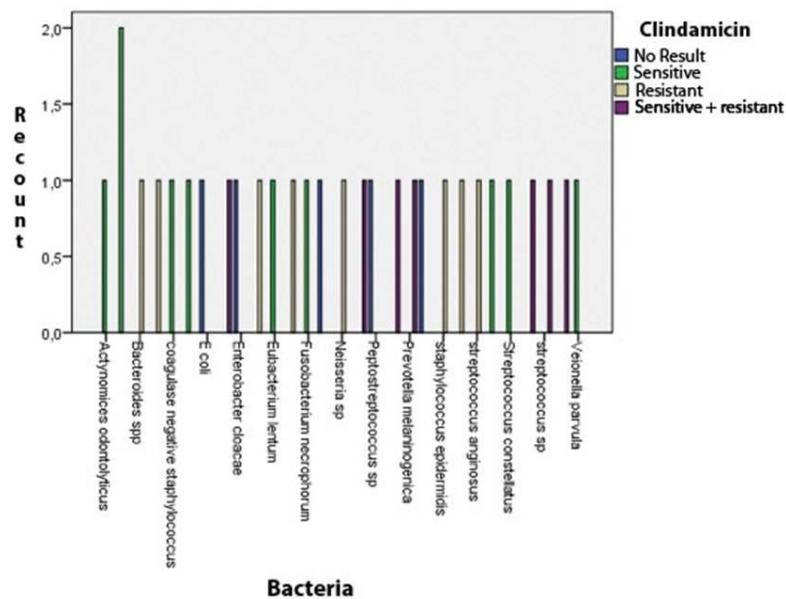


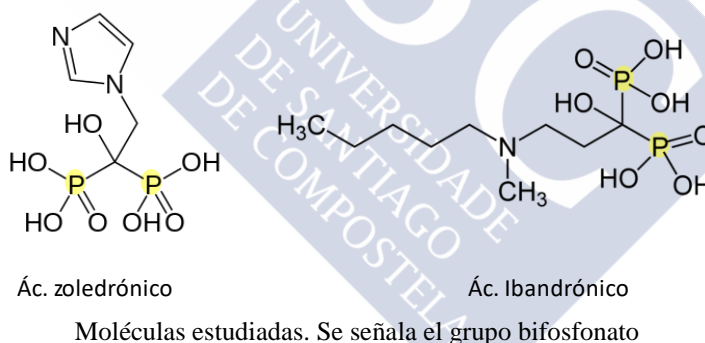
Figura 7. Antibiograma de la clindamicina

El levofloxacin, fue efectivo en un 42,8% de los pacientes, los cuales mostraron buena sensibilidad en su mayoría (88,8%). Finalmente, otro antibiótico menos utilizado en nuestra práctica diaria como la gentamicina, mostró buena sensibilidad a pesar de que fue efectiva en pocos pacientes (38%).

3. DETECCIÓN DE BIFOSFONATOS MEDIANTE RMN

3.1 Estudio por RMN ^{31}P y ^1H de muestras de tejido óseo de pacientes tratados con ácido zoledrónico o ácido ibandrónico

Para la detección de la posible acumulación de ác. ibandrónico en mandíbula en pacientes tratados por un largo período con este medicamento se utilizó inicialmente la técnica de RMN de sólidos de fósforo (espectros $1\text{D}^{31}\text{P}$ MAS). En estos espectros una cierta cantidad de muestra sólida (entre 5 y 20 mg con el equipamiento utilizado) se analiza directamente sin requerir de ningún tratamiento previo. En la estructura química de estas dos moléculas existe un grupo bifosfonato que es fácilmente identificable por su señal en el espectro de fósforo (^{31}P : $\delta_{\text{bifosfonato}}$ = entre 15 y 19 ppm).



Como puede verse en los espectros de la Figura 8, se detecta una señal de fósforo a ~5 ppm en el hueso de paciente tratado con el fármaco (hueso-oral). Esta señal coincide con la obtenida para el mismo tipo de muestra en hueso de paciente sano no tratado (hueso-sano). La señal es asignable a grupos mono-fosfato, abundante en moléculas como fosfolípidos de las membranas celulares, y que claramente no se corresponde con la señal esperable para el grupo bifosfonato del ácido ibandrónico a 19 ppm (bonviva).

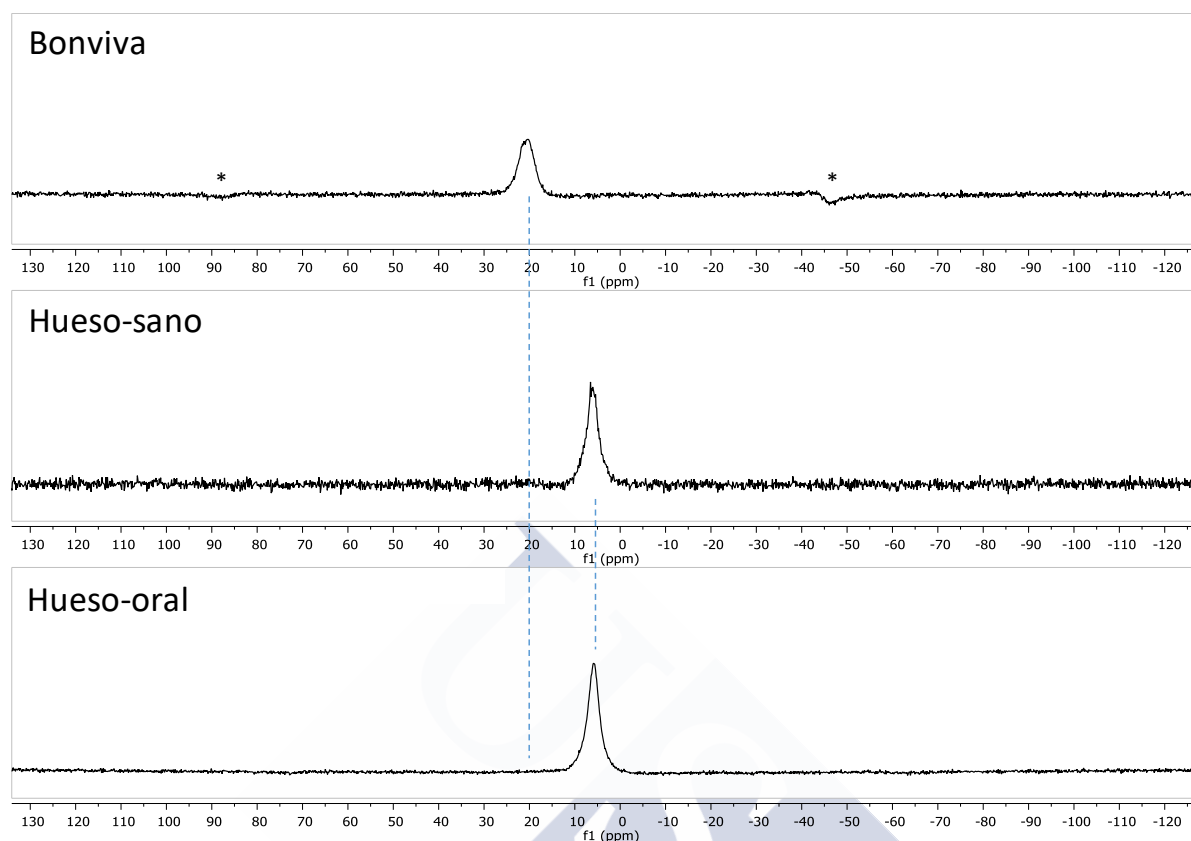


Figura 8. De arriba abajo, espectros de RMN 1D ^{31}P CP-MAS de muestras sólidas de bonviva, hueso de mandíbula de paciente sano y hueso de mandíbula de paciente largamente tratado con bonviva. Los asteriscos señalan dos bandas de rotación de uno de los espectros.

La ausencia de señal del bifosfonato en la muestra del paciente tratado con bonviva puede indicar que o bien la cantidad acumulada del fármaco en el tejido óseo analizado era muy pequeña (por debajo del umbral de detección de la técnica), o bien que el fármaco se acumuló en una forma modificada de molécula (metabolizada) que podría ser de tipo monofosfato.

Dado que el ácido zoledrónico es muy soluble en H_2O , como método alternativo para su detección en hueso de mandíbula de paciente con largo tratamiento, se decidió probar a medir espectros de RMN de ^{31}P y ^1H en disolución. En el espectro ^{31}P de líquidos la señal de su grupo bifosfonato aparece entre 15 y 20 ppm, una zona similar a la de los espectros de ^{31}P de sólidos. En la Figura 9, se muestran el espectro 1D ^{31}P de líquidos del propio medicamento comercial ácido zoledrónico (se distribuye en disolución acuosa) y el espectro análogo del extracto acuoso de hueso de mandíbula de un paciente tratado con zoledrónico (Hueso-oral 2). En Hueso-oral 2 aparece una señal de fósforo a 2.9 ppm (señal de mono-

fosfato) que no coincide con la del ácido zoledrónico a 15.4 ppm (señal de bifosfonato), lo que implica que no se detectó la presencia de ácido zoledrónico en Hueso-oral-2.

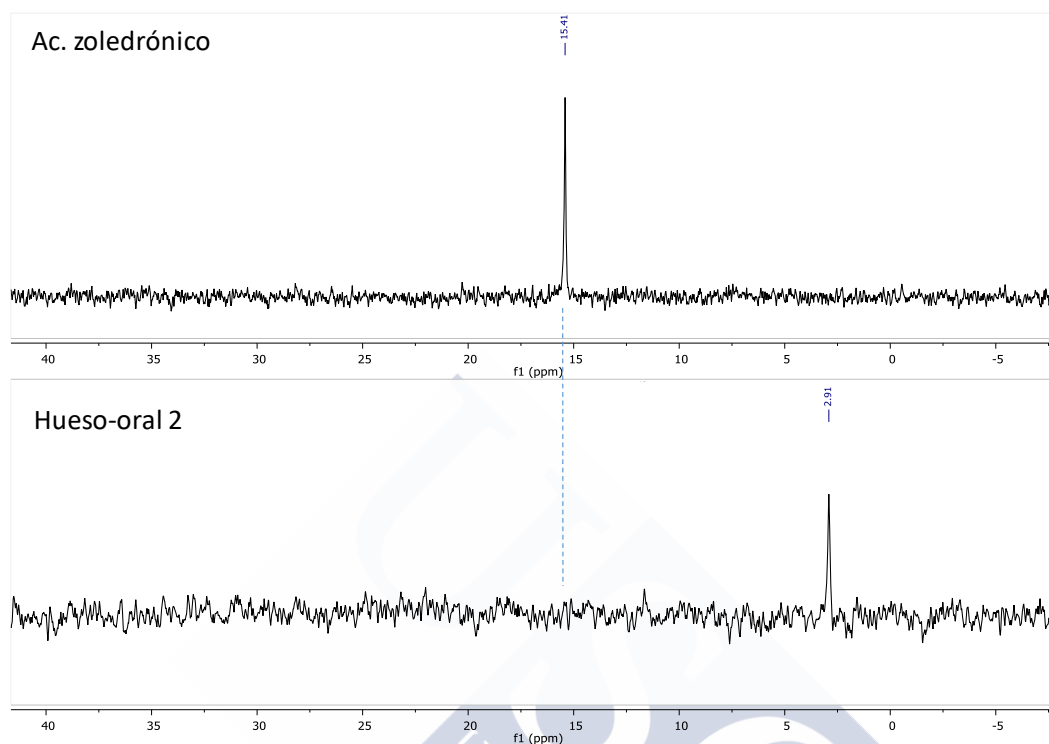


Figura 9. Espectros 1D ^{31}P RMN en disolución acuosa. (arriba) muestra del fármaco comercial ác. zoledrónico, (abajo) muestra Hueso-Oral-2 de un paciente largamente tratado con ác. zoledrónico.

Aunque los espectros de RMN ^1H de muestras biológicas suelen ser mucho más complejos que los de RMN ^{31}P , los primeros tienen bastante más sensibilidad. En concreto el umbral mínimo de concentración que puede detectarse (en un espectrómetro de 500 MHz) con RMN ^1H es del orden 20-40 μM . Por esta razón, se decidió medir el espectro ^1H RMN en disolución de las muestras anteriores para ver si es posible la detección de zolédronico en la muestra Hueso-Oral-2. En la Fig. 10 se muestran los espectros 1D ^1H del medicamento comercial de ácido zoledrónico y del extracto Hueso-oral 2. En el fármaco comercial (Fig. 10 arriba) aparecen dos señales características a 7.45 y 7.51 ppm que tienen aproximadamente la misma intensidad y que se corresponden a los hidrógenos del grupo imidazolio de esta molécula. En el espectro de Hueso-oral 2 (Fig. 10 abajo) no se aprecian las dos señales del grupo imidazolio, es decir, no se detecta la presencia del ácido zoledrónico.

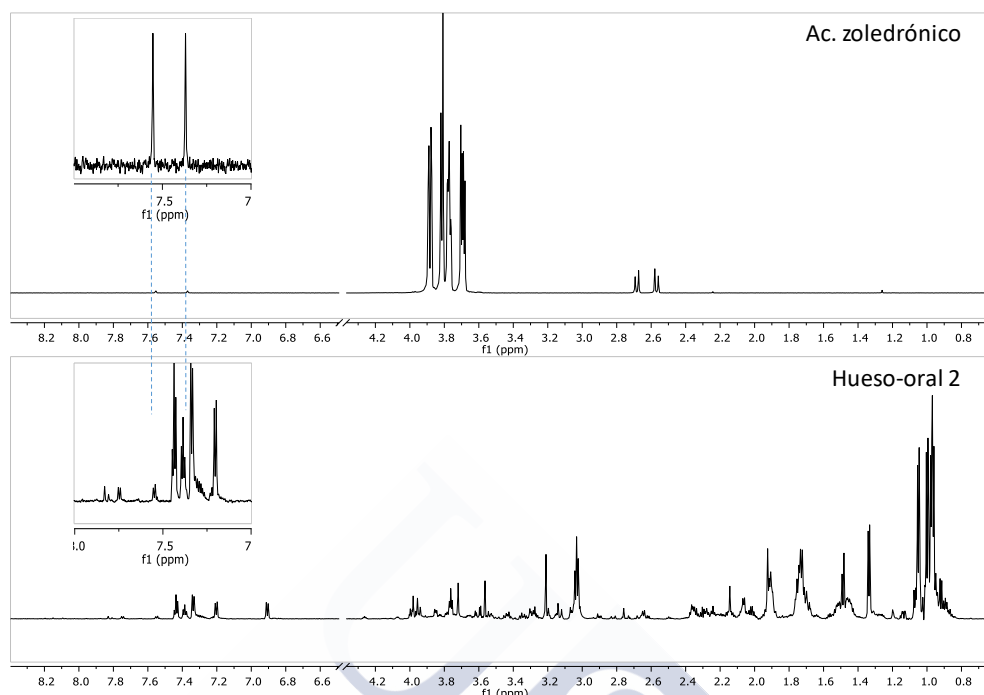


Figura 10. Espectros 1D ^1H RMN en disolución acuosa. (arriba) muestra del fármaco comercial ác. zoledrónico, (abajo) muestra Hueso-Oral-2 de un paciente largamente tratado con ác. zoledrónico. En cada espectro se muestra una expansión de la zona que corresponde a señales de grupo imidazolio.

3.2 Estudio de metabolómica por RMN ^1H de muestras de orina de pacientes tratados con ac. Zoledrónico.

Antes de proceder al análisis de metabolómica, una simple inspección visual de los espectros de las 25 muestras de orina analizadas (Fig. 11) permite detectar que hay grandes diferencias cualitativas para algunos espectros que en principio se corresponden al mismo grupo de muestra. Por ejemplo, de los 12 espectros de muestras de orina tomadas antes del tratamiento, 4 de ellas (muestras 18 a 21 en Fig. 11) muestran diferencias notables en las señales respecto a las restantes 8 de su mismo grupo (muestras 1 a 8 en Fig. 11). Por otra parte, de los 13 espectros de muestras de orina tomadas después del tratamiento, 4 de ellas (muestras 22 a 25 en Fig. 11) tienen también diferencias cualitativas notables respecto a las restantes 9 de su mismo grupo (muestras 9 a 17 en Fig. 11).

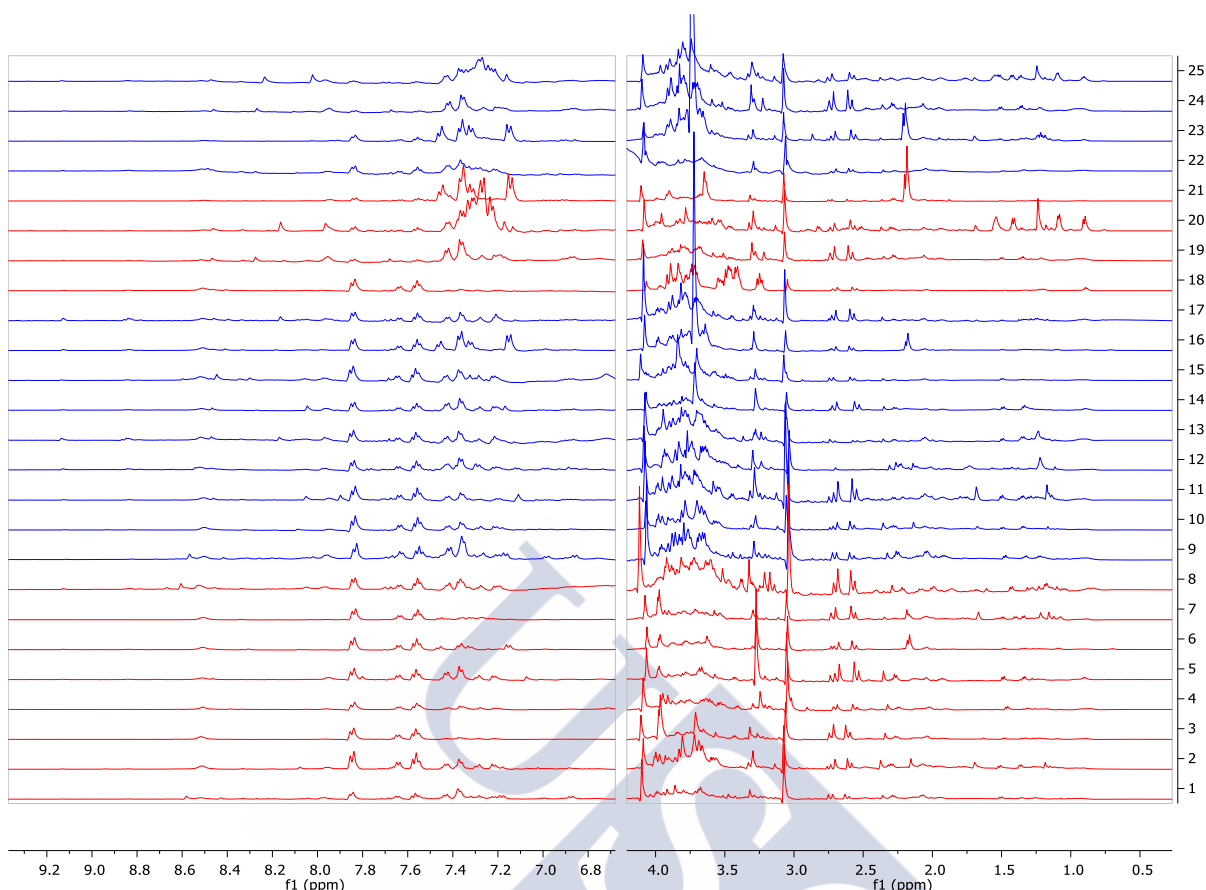


Figura 11. Espectros de ^1H NMR apilados de las 25 muestras de orina estudiadas. El color rojo/azul del espectro corresponde al grupo antes/después de tratamiento con ác. zoledrónico. Los espectros de 1 a 17 en la escala vertical son suficiente parecidos dentro de su correspondiente grupo. Los espectros de 18 a 25 tienen grandes diferencias con los anteriores.

Con los 25 espectros se construyó una matriz de datos ROIs normalizados y se hizo un cálculo DA (Análisis Discriminante) para derivar funciones de clasificación que distingan entre los grupos antes y después. Los resultados de DA se resumen en la Tabla 9. Puede verse en los datos de la validación cruzada que el error en la clasificación es de aproximadamente un 50% para ambos grupos. Este porcentaje de acierto en torno al 50% es el esperable para una clasificación de los dos grupos completamente al azar, lo que indica que en este conjunto de 25 espectros de RMN ^1H de orina no se encontraron patrones de intensidad en las señales que permitan distinguir en las muestras entre un paciente antes y uno después del tratamiento. Este resultado adverso era de algún modo esperable si se toma en cuenta las grandes diferencias cualitativas reseñadas para un número de casos considerable de espectros intra-grupo (un 32% del total de muestras). Sería interesante, desde

luego, conocer los motivos por los que esos espectros de orina son tan anómalos respecto al resto.

Resultados de la clasificación^{a,c}

			Grupo de pertenencia pronosticado		Total
			0	1	
Original	Recuento	0	11	1	12
		1	0	13	13
	%	0	91.7	8.3	100.0
		1	.0	100.0	100.0
Validación cruzada ^b	Recuento	0	6	6	12
		1	6	7	13
	%	0	50.0	50.0	100.0
		1	46.2	53.8	100.0

a. Clasificados correctamente el 96.0% de los casos agrupados originales.

b. La validación cruzada sólo se aplica a los casos del análisis. En la validación cruzada, cada caso se clasifica mediante las funciones derivadas a partir del resto de los casos.

c. Clasificados correctamente el 52.0% de los casos agrupados validados mediante validación cruzada.

Tabla 9. Resultados del Análisis Discriminante de la matriz de datos ROIs de 25 espectros de orina normalizados con el método Suma Total Constante.

Como posibilidad alternativa de encontrar patrones que distingan ambos grupos de muestras se decidió repetir el análisis DA considerando una matriz de ROIs normalizada reducida que solamente tome en cuenta aquellos espectros en los que no se apreciaron grandes diferencias cualitativas intra-grupo. Se construyó de este modo una nueva matriz de ROIs solamente con 17 de los 25 espectros de orina estudiados (espectros 1 a 17 en Fig. 11). Los resultados DA obtenidos se muestran en la Tabla 10. Como puede verse en la parte de la validación cruzada se consigue un porcentaje de acierto en la clasificación del 62.5% para la muestra antes y del 77.8% para la muestra después. Aunque mejores que los obtenidos anteriormente, estos porcentajes de acierto son bastante inferiores a un 90% que podría considerarse un límite bajo razonable como para que merezca la pena continuar con un análisis detallado de las funciones discriminante generadas en el DA y para encontrar e identificar los metabolitos implicados.

Resultados de la clasificación^{a,c}

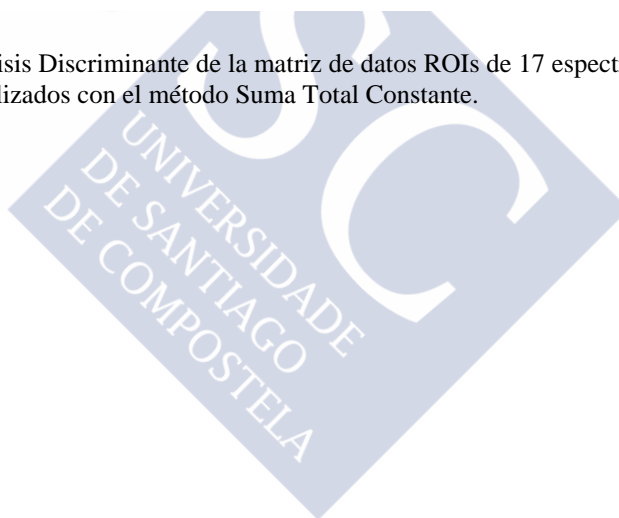
			Grupo de pertenencia pronosticado		Total
			0	1	
Original	Recuento	V7 0	8	0	8
		1	0	9	9
	%	0	100,0	,0	100,0
		1	,0	100,0	100,0
Validación cruzada ^b	Recuento	0	5	3	8
		1	2	7	9
	%	0	62,5	37,5	100,0
		1	22,2	77,8	100,0

a. Clasificados correctamente el 100,0% de los casos agrupados originales.

b. La validación cruzada sólo se aplica a los casos del análisis. En la validación cruzada, cada caso se clasifica mediante las funciones derivadas a partir del resto de los casos.

c. Clasificados correctamente el 70,6% de los casos agrupados validados mediante validación cruzada.

Tabla 10. Resultados del Análisis Discriminante de la matriz de datos ROIs de 17 espectros de orina normalizados con el método Suma Total Constante.



VI. DISCUSIÓN

1. DE LOS FACTORES DE RIESGO Y LA PREVALENCIA

Los bifosfonatos intravenosos son fármacos muy utilizados actualmente en el tratamiento de pacientes con metástasis óseas para evitar fracturas patológicas así como disminuir el dolor. Como efecto negativo más relevante se describe la osteonecrosis de los maxilares, con una prevalencia muy variable según la literatura que ronda el 0,7-12%¹⁴²⁻¹⁴⁴ según el autor revisado, dato que se asemeja con el 12,9% obtenido en nuestro estudio.

La mayoría de los procesos de MRONJ están relacionados con tratamientos prolongados con bifosfonatos nitrogenados intravenosos^{145,146}. Además, en cuanto a la edad y el género, se ha observado una mayor predisposición en edades avanzadas y mujeres, ya que las enfermedades malignas y osteoporosis que aparecen al mismo tiempo como el cáncer de mama son más frecuentes en este tipo de pacientes¹⁴⁶.

Todos nuestros pacientes recibieron zoledronato (Zometa®), el bifosfonato asociado más frecuentemente a la aparición de ONM, seguramente porque es el más potente y el bifosfonato de tercera generación más utilizado^{147,148}. La indicación principal de los bifosfonatos son los pacientes oncológicos; en nuestro caso, el cáncer más prevalente fue el de próstata en hombres (52,2%), el de mama en mujeres (30,4%) seguido del mieloma múltiple (17,4%) sin diferencias entre sexos. Estos datos difieren de la bibliografía revisada^{149,150} ya que el oncólogo que más pacientes deriva a nuestro servicio es especialista en cáncer de próstata.

Respecto a la dosis administrada, pocos estudios recogen las dosis exactas de los pacientes, así como el periodo entre las mismas. En nuestro caso, un 91,3% de los pacientes recibieron dosis mensuales de zoledronato, respecto a un 8,7% que recibió las dosis de manera trimestral. De cualquier modo, la bibliografía sí concluye que a mayor dosis de fármaco, hay mayor riesgo de desarrollar ONM^{151,152}. Respecto al periodo de tiempo en la aparición de la ONM una vez iniciado el tratamiento con bifosfonatos, un 24% de los pacientes padecieron una exposición ósea durante el primer año de tratamiento, un 32% a los 2-3 años y un 44% a

partir de los 3 años. Según el estudio de Bamias¹⁵³ el riesgo de padecer ONM en los pacientes en tratamiento con bifosfonatos intravenosos aumentaba a partir de los 39 meses, lo que concuerda con los datos obtenidos en nuestro estudio.

Actualmente también se incluyen factores de riesgo como el tratamiento con corticoides, obesidad, tabaco, diabetes o tratamiento con quimioterápicos¹⁵⁴; en nuestro estudio, no se demostró ninguna diferencia estadísticamente significativa en cuanto a esas variables.

Las extracciones dentales se han descrito como factor precursor en un 86% de los casos en la aparición de la osteonecrosis en los pacientes sometidos a tratamiento con bifosfonatos^{143,155}. Las extracciones previas y post tratamiento con bifosfonatos no mostraron significación estadística, sin embargo, las extracciones durante el tratamiento con bifosfonatos si mostraron un mayor impacto en la aparición de ONM, ya que 5 de los 6 pacientes que recibieron extracciones desarrollaron ONM.

En cuanto a los nuevos fármacos atirresortivos administrados a estos pacientes para el control de su patología, parece que los ensayos clínicos apuntan que no hay diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la prevalencia e incidencia en la administración de Zometa de 4mg mensual respecto al Denosumab de 120mg mensual, aunque estos últimos sí presentan una incidencia ligeramente mayor de osteonecrosis¹⁸. Por lo tanto, también tendremos que tener muy cuenta estos tipos de fármacos con el fin de instaurar todos los protocolos de prevención descritos para estos pacientes.

A pesar de la extensa bibliografía existente a cerca de la patología y tratamiento de la osteonecrosis, todos los autores coinciden en que la prevención sigue siendo el objetivo principal de estos pacientes. Son numerosos los protocolos existentes destinados a los odontólogos para fomentar su diagnóstico así como su tratamiento a seguir (Anexo 4 y 5).

2. DEL COMPONENTE BACTERIANO EN LA OSTEONECROSIS

A pesar de la extensa bibliografía presente seguimos sin tener una conclusión unánime en cuanto a su etiología y tratamiento. Dentro de los diferentes factores de riesgo descritos, la presencia de la microflora en la cavidad oral ha empezado a considerarse como un factor iniciador o estimulador en el progreso de la ONM muy cuestionado por otros autores. Estudios mediante biopsias y cultivos de lesiones por ONM señalaron la presencia de especies bacterianas como *Fusobacterium*, *Eikenella*, *Bacillus*, *Actinomyces*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*^{26,156}. A pesar que algunas de estas bacterias fueron consideradas colonizadores del biofilm en lugar de patógenos invasores, ningún estudio ha aclarado todavía la importancia de la microflora oral en el contexto de la ONM.

El estudio de Mawardi et al.⁴⁰ en ratones demuestra que los ratones infestados, con una bacteria (*Fusobacterium*) tras una extracción dentaria, tuvieron más casos de exposición ósea e infección, y además fueron más resistentes a la curación tras el tratamiento antibiótico; reforzando así la importancia de la flora bacteriana en el inicio y curación de la ONM.

En los cultivos microbiológicos de las exposiciones óseas de nuestros pacientes se han aislado múltiples gérmenes, tanto aerobios como anaerobios. Es importante reseñar que hemos encontrado diferencias significativas en cuanto al tipo de bacterias presentes en las muestras de ONM según el grado de lesión. Las bacterias aerobias fueron más abundantes en lesiones más leves (estadio I y II), mientras que las anaerobias se aislaron en los casos más avanzados. Esto podría explicar la dificultad en la mejora de pacientes con grado III cuando se siguen las mismas pautas terapéuticas que en los estadios iniciales. A pesar de estos datos, sólo hubo tres familias de especies bacterianas específicas dentro de los diferentes estadios de ONM. *Capnocytophaga* sp, *Neisseria* sp y el *Actinomyces* sp sí mostraron diferencias significativas relacionadas con el grado de afectación de ONM (Tabla 3) tal como demuestra Russmueller en su artículo¹⁵⁷.

En nuestra serie, el 87,5% de los pacientes con biopsia del secuestro óseo presentó histológicamente *Actinomyces* en la matriz ósea, dato que se asemeja con un estudio reciente de Russmueller¹⁵⁷ donde tuvieron un 89% de pacientes afectados y con los resultados de otros autores en sus publicaciones^{158,159}. El porcentaje de pacientes con

Actinomyces fue intermedio entre los publicados por Anavi-Lev et al.¹⁶⁰, que mostró un 100% de Actinomyces, y el 86% descrito en el artículo de Schipmann et al.⁴⁵ Sin embargo, el grado de inflamación no parece correlacionarse con la densidad de colonias de Actinomyces apreciables histológicamente y en algunos casos, su presencia no desencadena ningún tipo de respuesta inflamatoria apreciable. Esto sugeriría que el Actinomyces es sólo un microorganismo más dentro de la microflora y su papel como patógeno aislado no parece claro.

Lo que sí se ha afirmado, según la revisión de la literatura, es la mejoría de las lesiones con diferentes pautas antibióticas. En el estudio de Kaplan et al.¹⁶¹ se observó la gran actividad del Actinomyces en las lesiones de osteonecrosis y osteoradionecrosis, lo que conllevó a pautar un tratamiento con antibióticos muy específicos durante largos periodos de tiempo (entre 3-6 meses). Biasotto et al.¹⁶² demostraron que el tratamiento con periodos más cortos, al menos 7 días, dio lugar a la recaída de los pacientes; mientras que el estudio retrospectivo de Marx et al.¹⁵⁹ demostró que un 90% de los pacientes permanecieron libres de dolor al recibir una penicilina oral VK (500mg 4 veces al día) y clorhexidina al 0,12% en enjuague oral durante al menos 1 año. Finalmente, el estudio de Naik et al.¹⁶³ coincide con las propuestas anteriores de pautar un régimen prolongado de antibióticos, en este caso de manera intravenosa durante 2-6 semanas, seguido de un tratamiento oral de 6-12 meses en casos más severos. Además, si es posible, aconseja desbridar el tejido necrótico y los sequestratos óseos.

En nuestro estudio, la mayoría de nuestros pacientes mejoraron tras el tratamiento con antibiótico, en periodos de 2-4 semanas, y antimicrobianos (clorhexidina 0,12%). Cabe destacar, que tras la realización de antibiogramas del exudado presente en la exposición ósea, se mostraron resistencias a la Penicilina G y poca actividad frente a la clindamicina, azitromicina y levofloxacino; y que la asociación de amoxicilina con ácido clavulánico fue la pauta que mejores resultados demostró. Como también refleja la literatura la mayoría de microorganismos aislados muestran resistencias a las penicilinas, por ello, se proponen las quinolonas, el metronidazol, la clindamicina, doxiciclina y eritromicina como terapia antibiótica en estos pacientes¹⁹.

Tras los resultados obtenidos respecto a la relación de la edad y el grado de inflamación, creemos que los pacientes de edad más avanzada presentan mayor grado de inflamación y por lo tanto peor respuesta al tratamiento, posiblemente por una menor difusión del fármaco, comprometiendo así, la efectividad del tratamiento antibiótico contra la carga bacteriana presente en las exposiciones óseas.

En nuestros pacientes se realizó únicamente el tratamiento conservador, ya que conseguimos de esta manera controlar el avance de la necrosis. Aun así el desbridamiento quirúrgico ha sido demostrado como tratamiento eficaz en la erradicación de forma variable el hueso necrótico¹⁹. La dificultad de este procedimiento es obtener un margen quirúrgico con hueso sangrante viable ya que todo el hueso de la mandíbula ha sido expuesto a la influencia farmacológica del bisfosfonato. Por lo tanto, el tratamiento quirúrgico debe ser retrasado dentro de lo posible y reservado para aquellos pacientes en estadio 3 o en aquellos casos con secuestro óseo bien definido. Las áreas de hueso necrótico que son una fuente constante de irritación del tejido blando deben ser removidas o regularizadas sin exposición de hueso adicional.

A pesar que las diferentes propuestas en cuanto al tratamiento de los autores mencionados muestran una nueva tendencia combinando el tratamiento antibiótico de forma intravenosa y oral, en periodos de tiempos más prolongados, se necesitan más estudios estandarizados que consigan establecer una pauta adecuada y efectiva que permita una óptima mejoría de las osteonecrosis y osteoradionecrosis. La mayoría de ellos coinciden en que lo más importante es la prevención de estos pacientes para evitar la aparición de la osteonecrosis de los maxilares²³. Son varias las publicaciones que demuestran que la prevención disminuye el riesgo de ONM en los pacientes bajo tratamiento con bifosfonatos intravenosos^{63,148,164}. Para ello, es muy importante la realización de una exhaustiva valoración oral, dental y radiográfica para detectar patologías óseas o dentarias y tratarlas de forma precoz. La prevención mediante extracciones previas de dientes con mal pronóstico, parece ser una medida adecuada ya que de los 94 pacientes a los cuales realizamos esta medida, 86 de ellos (91,5%) no desarrolló ONM.

3. DE LA DETECCIÓN DE LOS BIFOSFONATOS MEDIANTE RMN

3.1 EN HUESO

Las conclusiones del estudio por RMN en disolución son análogas a las mencionadas en el estudio por RMN en estado sólido de este tipo de muestra con el tratamiento con bonviva. En ambos casos no se llega a detectar la presencia del fármaco en el tejido óseo de mandíbula del paciente tratado con ác. zoledrónico. Los espectros ^1H RMN en disolución permiten concluir que o bien la cantidad acumulada del fármaco en el tejido óseo estaba por debajo de 10-20 micromolar en el extracto (por debajo del umbral de detección del espectro ^1H), o bien que el fármaco se acumuló en una forma modificada de molécula (metabolizada). En cualquier caso, sería necesario un protocolo adecuado para poder estandarizar la toma y procesamiento de las muestras para así poder determinar si se trata de un método adecuado.

3.2 EN ORINA

No se consiguió detectar las señales de ác. zoledrónico en los espectros de los pacientes tratados. Una de las posibles razones es que estas muestras no contuvieran una concentración de fármaco suficiente para la detección por esta técnica, por no haberse optimizado el tiempo de recogida de la muestra para maximizar la presencia del fármaco. Quizás sería más correcto esperar más tiempo para la recogida de orina posterior al tratamiento.

En cuanto al objetivo planteado para comparar las muestras de orina de pacientes antes y después del tratamiento con zoledrónico, el fundamento es que la degradación metabólica de este fármaco en el organismo podría derivar en una alteración de la composición de otros metabolitos comunes de la orina. Esto podría crear algún tipo de patrón detectable en la intensidad de alguno/s de esos metabolitos que podrían distinguirse al comparar los espectros de las muestras tomadas antes y después del tratamiento (grupo antes y grupo después).

Las razones que llevan a estas diferencias cualitativas en los metabolitos dentro de un mismo grupo de muestras pueden ser muy variadas. Se plantea como hipótesis algún efecto colateral de la enfermedad o de su largo tratamiento médico que habría alterado la función de órganos que afectarían a la composición de la orina (cirrosis, insuficiencia renal).

VII. CONCLUSIONES

1. Hay mayor predisposición a desarrollar osteonecrosis en edades avanzadas y mujeres ya que las enfermedades malignas y osteoporosis que aparecen al mismo tiempo como el cáncer de mama son más frecuentes en este tipo de pacientes.
2. La dosis de bifosfonato administrada está directamente relacionada con el riesgo de aparición de MRONJ, sobretodo a partir de los 3 años tras el tratamiento.
3. Los factores de riesgo como el tratamiento con corticoides, obesidad, tabaco, diabetes o tratamiento con quimioterápicos no han demostrado ninguna diferencia estadísticamente significativa en nuestro estudio.
4. Las extracciones dentales se han descrito como factor precursor desencadenante en un 86% de los casos en la aparición de la osteonecrosis en los pacientes sometidos a tratamiento con bifosfonatos.
5. No hay diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la prevalencia e incidencia de MRONJ en la administración bifosfonatos o tratamiento con antirreabsortivos (Denosumab).
6. Conocer el componente bacteriano es importante por su papel en el inicio e avance de la MRONJ. Las bacterias aerobias fueron más abundantes en lesiones más leves (estadio I y II), mientras que las anaerobias se aislaron en los casos más avanzados.
7. El 87,5% de los pacientes con biopsia del sequestro óseo presentó histológicamente *Actinomyces* en la matriz ósea, aunque dicho patógeno no determina una respuesta inflamatoria determinada.

8. Tras la realización de antibiogramas del exudado presente en la exposición ósea, se mostraron resistencias a la Penicilina G y poca actividad frente a la clindamicina, azitromicina y levofloxacino. Además, la asociación de amoxicilina con ácido clavulánico fue la pauta que mejores resultados demostró.
9. Los pacientes de edad más avanzada presentan mayor grado de inflamación y por lo tanto peor respuesta al tratamiento, posiblemente por una menor difusión del fármaco, comprometiendo así, la efectividad del tratamiento antibiótico contra la carga bacteriana presente en las exposiciones óseas.
10. La mayoría de nuestros pacientes mejoraron tras el tratamiento con antibiótico, en periodos de 2-4 semanas, y antimicrobianos (clorhexidina 0,12%). Por tanto, el tratamiento quirúrgico debe ser retrasado dentro de lo posible y reservado para aquellos pacientes en estadio 3 o en aquellos casos con secuestro óseo bien definido
11. La RMN no es un buen método para detectar el bifosfonato en disolución porque la cantidad acumulada del fármaco en el tejido óseo está por debajo de 10-20 micromolar en el extracto (por debajo del umbral de detección del espectro¹H), o bien porque el fármaco se acumula en una forma modificada de molécula (metabolizada)
12. Las señales del grupo imidazolio de ácido zoledrónico que aparecen a 7.45 y 7.51 ppm no se pueden detectar en los espectros de orina de los pacientes tratados ya que la degradación metabólica de este fármaco en el organismo podría derivar en una alteración de la composición de otros metabolitos comunes de la orina.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. LAPIDUS FI. Cancer and osteonecrosis of the lower jaw following irradiation. *Stomatologiia (Mosk)*. 1950;2:34-36.
2. GOWGIEL JM. Experimental radio-osteonecrosis of the jaws. *J Dent Res*. 1960;39:176-197.
3. LAWRENCE EA. Osteoradionecrosis of the mandible. *Am J Roentgenol Radium Ther*. 1946;55:733-742.
4. Gallagher RE. Arsenic—new life for an old potion. *N Engl J Med*. 1998;339(19):1389-1391.
5. Cruse WP, Bellizzi R. A historic review of endodontics, 1689–1963, part 1. *J Endod*. 1980;6(3):495-499.
6. Dumlu A, Yalcinkaya S, Olgac V, Güvercin M. Osteomyelitis due to arsenic trioxide use for tooth devitalization. *Int Endod J*. 2007;40(4):317-322.
7. Tal M, Kaufman A, Buchner A. Bone necrosis and dentine resorption caused by toxavit: A case report. *Int Endod J*. 1978;11(2):77-79.
8. Bataineh A, AL-OMARI M, Owais A. Arsenical necrosis of the jaws. *Int Endod J*. 1997;30(4):283-287.
9. Sanders B, McKelvy B, Adams D. Aseptic osteomyelitis and necrosis of the mandibular condylar head after intracapsular fracture. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1977;43(5):665-670.
10. Lanigan DT, West RA. Aseptic necrosis of the mandible: Report of two cases. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 1990;48(3):296-300.
11. Sung EC, Chan SM, Sakurai K, Chung E. Osteonecrosis of the maxilla as a complication to chemotherapy: A case report. *Special Care in Dentistry*. 2002;22(4):142-146.
12. Marx RE. Pamidronate (aredia) and zoledronate (zometa) induced avascular necrosis of the jaws: A growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg*. 2003;61(9):1115-1117.
13. Gupta S, Jain P, Kumar P, Parikh PM. Zoledronic acid induced osteonecrosis of tibia and femur. *Indian J Cancer*. 2009;46(3):249-250.

14. Polizzotto MN, Cousins V, Schwarer AP. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the auditory canal. *Br J Haematol*. 2006;132(1):114-114.
15. Advisory Task Force on Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaws, American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. American association of oral and maxillofacial surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg*. 2007;65(3):369-376. doi: 10.1016/j.joms.2006.11.003.
16. Ruggiero SL, Dodson TB, Assael LA, et al. American association of oral and maxillofacial surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw - 2009 update. *Aust Endod J*. 2009;35(3):119-130. doi: 10.1111/j.1747-4477.2009.00213.x; 10.1111/j.1747-4477.2009.00213.x.
17. Ruggiero SL, Dodson TB, Fantasia J, et al. American association of oral and maxillofacial surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw—2014 update. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2014;72(10):1938-1956.
18. Khan A, Morrison A, Cheung A, Hashem W, Compston J. Osteonecrosis of the jaw (ONJ): Diagnosis and management in 2015. *Osteoporosis Int*. 2016;27(3):853-859.
19. Ruggiero SL, Dodson TB, Assael LA, Landesberg R, Marx RE, Mehrotra B. American association of oral and maxillofacial surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws—2009 update. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2009;67(5):2-12.
20. IMS HEALTH. NPA plus™ may 2006. .
21. American dental association. *report of the council of scientific affairs. expert panel recommendations: Dental management of patients on oral bisphosphonate therapy*. june 2006. [cited 29 jun 2006.] available from URL:<http://Www.ada.org/prof/resources/topics/osteonecrosis.asp>. .
22. Mavrokokki T, Cheng A, Stein B, Goss A. Nature and frequency of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws in australia. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2007;65(3):415-423.
23. AULT A. Jaw necrosis affects 1 in 1,700 on oral bisphosphonates. *Internal Medicine News*. 2008;41(15):23-23.
24. Ruggiero SL, Fantasia J, Carlson E. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: Background and guidelines for diagnosis, staging and management. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2006;102(4):433-441.
25. Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: A review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004;62(5):527-534.

26. Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: Risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005;63(11):1567-1575. doi: 10.1016/j.joms.2005.07.010.
27. Hoff A, Toth B, Altundag K, et al. Osteonecrosis of the jaw in patients receiving intravenous bisphosphonate therapy. . 2006;24(18_suppl):8528.
28. Badros A, Weikel D, Salama A, et al. Osteonecrosis of the jaw in multiple myeloma patients: Clinical features and risk factors. *J Clin Oncol.* 2006;24(6):945-952.
29. Wessel JH, Dodson TB, Zavras AI. Zoledronate, smoking, and obesity are strong risk factors for osteonecrosis of the jaw: A case-control study. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2008;66(4):625-631.
30. Zervas K, Verrou E, Teleioudis Z, et al. Incidence, risk factors and management of osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma: A single-centre experience in 303 patients. *Br J Haematol.* 2006;134(6):620-623.
31. Jadu F, Lee L, Pharoah M, Reece D, Wang L. A retrospective study assessing the incidence, risk factors and comorbidities of pamidronate-related necrosis of the jaws in multiple myeloma patients. *Ann Oncol.* 2007;18(12):2015-2019.
32. Hoefert S, Schmitz I, Tannapfel A, Eufinger H. Importance of microcracks in etiology of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: A possible pathogenetic model of symptomatic and non-symptomatic osteonecrosis of the jaw based on scanning electron microscopy findings. *Clin Oral Investig.* 2010;14(3):271-284.
33. English BC, Baum CE, Adelberg DE, et al. A SNP in CYP2C8 is not associated with the development of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in men with castrate-resistant prostate cancer. *Ther Clin Risk Manag.* 2010;6:579-583.
34. Sarasquete ME, Garcia-Sanz R, Marin L, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw is associated with polymorphisms of the cytochrome P450 CYP2C8 in multiple myeloma: A genome-wide single nucleotide polymorphism analysis. *Blood.* 2008;112(7):2709-2712.
35. Khamaisi M, Regev E, Yarom N, et al. Possible association between diabetes and bisphosphonate-related jaw osteonecrosis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2007;92(3):1172-1175.

36. Bedogni A, Fusco V, Agrillo A, Campisi G. Learning from experience. proposal of a refined definition and staging system for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). *Oral Dis*. 2012;18(6):621-623.
37. Fedele S, Porter SR, D'Aiuto F, et al. Nonexposed variant of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: A case series. *Am J Med*. 2010;123(11):1060-1064.
38. Arce K, Assael LA, Weissman JL, Markiewicz MR. Imaging findings in bisphosphonate-related osteonecrosis of jaws. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2009;67(5):75-84.
39. Ruggiero SL. Guidelines for the diagnosis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). *Clinical cases in mineral and bone metabolism*. 2007;4(1):37.
40. Mawardi H, Giro G, Kajiya M, et al. A role of oral bacteria in bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. *J Dent Res*. 2011;90(11):1339-1345. Accessed 11/15/2013 12:41:51 PM. doi: 10.1177/0022034511420430; 10.1177/0022034511420430.
41. Katsarelis H, Shah NP, Dhariwal DK, Pazianas M. Infection and medication-related osteonecrosis of the jaw. *J Dent Res*. 2015;94(4):534-539.
42. Wimalawansa SJ. Insight into bisphosphonate-associated osteomyelitis of the jaw: Pathophysiology, mechanisms and clinical management. *Expert opinion on drug safety*. 2008;7(4):491-512.
43. Allen MR, Burr DB. The pathogenesis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: So many hypotheses, so few data. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009;67(5 Suppl):61-70. doi: 10.1016/j.joms.2009.01.007; 10.1016/j.joms.2009.01.007.
44. Lee CY, Pien FD, Suzuki JB. Identification and treatment of bisphosphonate-associated actinomycotic osteonecrosis of the jaws. *Implant Dent*. 2011;20(5):331-336.
45. Schipmann S, Metzler P, Rossle M, et al. Osteopathology associated with bone resorption inhibitors - which role does actinomyces play? A presentation of 51 cases with systematic review of the literature. *J Oral Pathol Med*. 2013;42(8):587-593.
46. De Ceulaer J, Tacconelli E, Vandecasteele S. Actinomyces osteomyelitis in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ): The missing link? *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2014;33(11):1873-1880.
47. Moghimi M, Salentijn E, Debets Ossenkop Y, Karagozoglu K, Forouzanfar T. Treatment of cervicofacial actinomycosis: A report of 19 cases and review of literature. . 2013.
48. Steininger C, Willinger B. Resistance patterns in clinical isolates of pathogenic actinomyces species. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(2):422-427.

49. Bocci V. Ozone as janus: This controversial gas can be either toxic or medically useful. *Mediators Inflamm.* 2004;13(1):3-11.
50. Ripamonti CI, Cislighi E, Mariani L, Maniezzo M. Efficacy and safety of medical ozone (O₃) delivered in oil suspension applications for the treatment of osteonecrosis of the jaw in patients with bone metastases treated with bisphosphonates: Preliminary results of a phase I–II study. *Oral Oncol.* 2011;47(3):185-190.
51. Vescovi P, Manfredi M, Merigo E, et al. Surgical approach with er: YAG laser on osteonecrosis of the jaws (ONJ) in patients under bisphosphonate therapy (BPT). *Lasers in medical science.* 2010;25(1):101-113.
52. Vescovi P, Merigo E, Meleti M, et al. Conservative surgical management of stage I bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Int J Dent.* 2014;2014:107690.
53. Freiburger JJ, Padilla-Burgos R, McGraw T, et al. What is the role of hyperbaric oxygen in the management of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: A randomized controlled trial of hyperbaric oxygen as an adjunct to surgery and antibiotics. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2012;70(7):1573-1583.
54. Atalay B, Yalcin S, Emes Y, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis: Laser-assisted surgical treatment or conventional surgery? *Lasers in medical science.* 2011;26(6):815-823.
55. Rodriguez-Lozano FJ, Onate-Sanchez R. Treatment of osteonecrosis of the jaw related to bisphosphonates and other antiresorptive agents. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2016:0.
56. Bedogni A, Saia G, Bettini G, et al. Long-term outcomes of surgical resection of the jaws in cancer patients with bisphosphonate-related osteonecrosis. *Oral Oncol.* 2011;47(5):420-424.
57. Schubert M, Klatte I, Linek W, et al. The saxon bisphosphonate Register–Therapy and prevention of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Oral Oncol.* 2012;48(4):349-354.
58. Cella L, Oppici A, Arbasi M, et al. Autologous bone marrow stem cell intralesional transplantation repairing bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw. *Head & face medicine.* 2011;7(1):1.
59. Gonzalvez-Garcia M, Rodriguez-Lozano FJ, Villanueva V, et al. Cell therapy in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Craniofac Surg.* 2013;24(3):e226-8.
60. Curi MM, Cossolin GSI, Koga DH, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws—an initial case series report of treatment combining partial bone resection and autologous platelet-rich plasma. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2011;69(9):2465-2472.
61. Cheung A, Seeman E. Teriparatide therapy for alendronate-associated osteonecrosis of the jaw. *N Engl J Med.* 2010;363(25):2473-2474.

62. Kim J, Kim S, Kim M. Leucocyte-rich and platelet-rich fibrin for the treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: A prospective feasibility study. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2014;52(9):854-859.
63. Dimopoulos MA, Kastiris E, Bamia C, et al. Reduction of osteonecrosis of the jaw (ONJ) after implementation of preventive measures in patients with multiple myeloma treated with zoledronic acid. *Ann Oncol*. 2009;20(1):117-120. doi: 10.1093/annonc/mdn554; 10.1093/annonc/mdn554.
64. Mehrotra B, Fantasia J, Ruggiero S. Outcomes of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw--importance of staging and management guidelines: A large single institutional update. . 2008;26(15_suppl):20526.
65. Corso A, Varettoni M, Zappasodi P, et al. A different schedule of zoledronic acid can reduce the risk of the osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma. *Leukemia*. 2007;21(7):1545-1548.
66. Rosen H, Moses A, Garber J, et al. Serum CTX: A new marker of bone resorption that shows treatment effect more often than other markers because of low coefficient of variability and large changes with bisphosphonate therapy. *Calcif Tissue Int*. 2000;66(2):100-103.
67. Carlson ER, Basile JD. The role of surgical resection in the management of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2009;67(5):85-95.
68. Marx RE, Cillo Jr JE, Ulloa JJ. Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: Risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention, and treatment. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2007;65(12):2397-2410.
69. Migliorati CA, Siegel MA, Elting LS. Bisphosphonate-associated osteonecrosis: A long-term complication of bisphosphonate treatment. *The lancet oncology*. 2006;7(6):508-514.
70. American association of endodontists position statement. *endodontic implications of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws*. [cited 14 aug 2006.] available from URL: <http://Www.aae.org/dentalpro/guidelines.htm>. .
71. Enciso R, Keaton J, Saleh N, Ahmadih A, Clark GT, Sedghizadeh PP. Assessing the utility of serum C-telopeptide cross-link of type 1 collagen as a predictor of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: A systematic review and meta-analysis. *J Am Dent Assoc*. 2016.
72. Borromeo G, Tsao C, Darby I, Ebeling P. A review of the clinical implications of bisphosphonates in dentistry. *Aust Dent J*. 2011;56(1):2-9.
73. Russell RGG. Bisphosphonates: The first 40years. *Bone*. 2011;49(1):2-19.
74. Rodan GA, Fleisch HA. Bisphosphonates: Mechanisms of action. *J Clin Invest*. 1996;97(12):2692-2696.

75. Wood J, Bonjean K, Ruetz S, et al. Novel antiangiogenic effects of the bisphosphonate compound zoledronic acid. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002;302(3):1055-1061. doi: 10.1124/jpet.102.035295.
76. Santini D, Vincenzi B, Avvisati G, et al. Pamidronate induces modifications of circulating angiogenic factors in cancer patients. *Clin Cancer Res*. 2002;8(5):1080-1084.
77. Kapitola J, Zak J, Lacinova Z, Justova V. Effect of growth hormone and pamidronate on bone blood flow, bone mineral and IGF-I levels in the rat. *Physiological Research*. 2000;49:S101-S106.
78. Kapitola J, Zak J. Effect of pamidronate on bone blood flow in oophorectomized rats. *Physiological research*. 1998;47:237-240.
79. Fournier P, Boissier S, Filleur S, et al. Bisphosphonates inhibit angiogenesis in vitro and testosterone-stimulated vascular regrowth in the ventral prostate in castrated rats. *Cancer Res*. 2002;62(22):6538-6544.
80. Corso A, Ferretti E, Lunghi M, et al. Zoledronic acid down-regulates adhesion molecules of bone marrow stromal cells in multiple myeloma. *Cancer*. 2005;104(1):118-125.
81. Berenson JR, Hillner BE, Kyle RA, et al. American society of clinical oncology clinical practice guidelines: The role of bisphosphonates in multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2002;20(17):3719-3736.
82. Physicians' desk reference. 57th ed. montvale, NJ: Medical economics; 2003.s. .
83. Hohnecker JA. novartis 'Dear doctor' precautions added to label of aredia and zometa. september 24, 2004. .
84. Almojaly S. *The effect of the bisphosphonate, alendronate, on primary human alveolar bone cells*. ProQuest; 2008.
85. [Http://Www.fda.gov/ohms/dockets/ac/05/briefing/2005-4095b1.htm](http://www.fda.gov/ohms/dockets/ac/05/briefing/2005-4095b1.htm). .
86. Green JR, Müller K, Jaeggi KA. Preclinical pharmacology of CGP 42' 446, a new, potent, heterocyclic bisphosphonate compound. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1994;9(5):745-751.
87. Black DM, Cummings SR, Karpf DB, et al. Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. *The Lancet*. 1996;348(9041):1535-1541.
88. Ravn P, Bidstrup M, Wasnich RD, et al. Alendronate and estrogen-progestin in the long-term prevention of bone loss: Four-year results from the early postmenopausal intervention cohort study: A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med*. 1999;131(12):935-942.

89. McClung MR, Geusens P, Miller PD, et al. Effect of risedronate on the risk of hip fracture in elderly women. *N Engl J Med*. 2001;344(5):333-340.
90. Miller P, Roux C, McClung M, et al. Risedronate reduces hip fractures in patients with low femoral neck bone mineral density. *Arthritis Rheum*. 1999;42(S1):S287.
91. Russell R, Preston C, Smith R, Walton R, Woods C. Diphosphonates in paget's disease. *The Lancet*. 1974;303(7863):894-898.
92. Kranenburg G, Bartstra JW, Weijmans M, et al. Bisphosphonates for cardiovascular risk reduction: A systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis*. 2016;252:106-115.
93. Delmas PD, Meunier PJ. The management of paget's disease of bone. *N Engl J Med*. 1997;336(8):558-566.
94. Letocha AD, Cintas HL, Troendle JF, et al. Controlled trial of pamidronate in children with types III and IV osteogenesis imperfecta confirms vertebral gains but not Short-Term functional improvement. *Journal of bone and mineral research*. 2005;20(6):977-986.
95. Bone HG, Hosking D, Devogelaer J, et al. Ten years' experience with alendronate for osteoporosis in postmenopausal women. *N Engl J Med*. 2004;350(12):1189-1199.
96. Haderslev K, Tjellesen L, Sorensen H, Staun M. Alendronate increases lumbar spine bone mineral density in patients with crohn's disease. *Gastroenterology*. 2000;119(3):639-646.
97. Wierna A, Ansonnaud A, Soria de González A, González Mac Donald M, Zamudio H. Osteonecrosis maxilar postextracción dentaria en pacientes bajo tratamiento con bifosfonatos: Presentación de 2 casos clínicos. *Rev.Círc.Argent.Odontol*. 2009;66(207):14-18.
98. Bisdas S, Pinho NC, Smolarz A, Sader R, Vogl T, Mack M. Biphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: CT and MRI spectrum of findings in 32 patients. *Clin Radiol*. 2008;63(1):71-77.
99. Font RG, García MM, Martínez JO. Osteochemonecrosis of the jaws due to bisphosphonate treatments. update. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2008;13(5):318-324.
100. Anguita T, Agurto J, Roa I, Laissle G. Osteonecrosis asociada al uso de bifosfonatos: A propósito de un caso clínico. *Revista médica de Chile*. 2006;134(9):1161-1165.
101. Dicunzo G, Vincenzi B, Santini D, et al. Fever after zoledronic acid administration is due to increase in TNF- α and IL-6. *Journal of interferon & cytokine research*. 2003;23(11):649-654.

102. Khan SA, Kanis JA, Vasikaran S, et al. Elimination and biochemical responses to intravenous alendronate in postmenopausal osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1997;12(10):1700-1707.
103. Stepensky D, Kleinberg L, Hoffman A. Bone as an effect compartment. *Clin Pharmacokinet*. 2003;42(10):863-881.
104. Itoh A, Akagi Y, Shimomura H, Aoyama T. Interaction between bisphosphonates and mineral water: Study of oral risedronate absorption in rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2016;39(3):323-328.
105. Akagi Y, Sakaue T, Yoneyama E, Aoyama T. Influence of mineral water on absorption of oral alendronate in rats. *Yakugaku Zasshi*. 2011;131(5):801-807.
106. Masarachia P, Weinreb M, Balena R, Rodan G. Comparison of the distribution of 3 H-alendronate and 3 H-etidronate in rat and mouse bones. *Bone*. 1996;19(3):281-290.
107. Veldboer K, Vielhaber T, Ahrens H, Hardes J, Streitbürger A, Karst U. Determination of zoledronic acid in human urine and blood plasma using liquid chromatography/electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*. 2011;879(22):2073-2080.
108. Allen MR. Skeletal accumulation of bisphosphonates: Implications for osteoporosis treatment. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*. 2008;4(11):1371-1378.
109. Muntoni E, Canaparo R, Della Pepa C, et al. Determination of disodium clodronate in human plasma and urine using gas-chromatography–nitrogen-phosphorous detections: Validation and application in pharmacokinetic study. *Journal of Chromatography B*. 2004;799(1):133-139.
110. Han YR, Qin X. Determination of alendronate sodium by ion chromatography with refractive index detection. *Journal of Chromatography A*. 1996;719(2):345-352.
111. Huikko K, Kostianen R. Analysis of bisphosphonates by capillary electrophoresis–electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2000;872(1):289-298.
112. Xie Z, Jiang Y, Zhang D. Simple analysis of four bisphosphonates simultaneously by reverse phase liquid chromatography using n-amylamine as volatile ion-pairing agent. *Journal of Chromatography A*. 2006;1104(1):173-178.
113. Raccor BS, Sun J, Lawrence RF, et al. Quantitation of zoledronic acid in murine bone by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*. 2013;935:54-60.
114. Leo GC, Darrow AL. NMR-based metabolomics of urine for the atherosclerotic mouse model using apolipoprotein-E deficient mice. *Magn Reson Chem*. 2009;47(S1):S20-S25.
115. Zhang J, Bowers J, Liu L, et al. Esophageal cancer metabolite biomarkers detected by LC-MS and NMR methods. *PloS one*. 2012;7(1):e30181.

116. Mallol R, Rodriguez MA, Brezmes J, Masana L, Correig X. Human serum/plasma lipoprotein analysis by NMR: Application to the study of diabetic dyslipidemia. *Prog Nucl Magn Reson Spectrosc.* 2013;70:1-24.
117. Kostara CE, Papathanasiou A, Psychogios N, et al. NMR-based lipidomic analysis of blood lipoproteins differentiates the progression of coronary heart disease. *Journal of proteome research.* 2014;13(5):2585-2598.
118. Bouatra S, Aziat F, Mandal R, et al. The human urine metabolome. *PloS one.* 2013;8(9):e73076.
119. Beckonert O, Keun HC, Ebbels TM, et al. Metabolic profiling, metabolomic and metabonomic procedures for NMR spectroscopy of urine, plasma, serum and tissue extracts. *Nature protocols.* 2007;2(11):2692-2703.
120. Dona AC, Jiménez B, Schäfer H, et al. Precision high-throughput proton NMR spectroscopy of human urine, serum, and plasma for large-scale metabolic phenotyping. *Anal Chem.* 2014;86(19):9887-9894.
121. Richards SA, Hollerton JC. *Essential practical NMR for organic chemistry.* John Wiley & Sons; 2010.
122. Dieterle F, Ross A, Schlotterbeck G, Senn H. Probabilistic quotient normalization as robust method to account for dilution of complex biological mixtures. application in ¹H NMR metabonomics. *Anal Chem.* 2006;78(13):4281-4290.
123. Geusens P. Emerging treatments for postmenopausal osteoporosis - focus on denosumab. *Clin Interv Aging.* 2009;4:241-250.
124. Fizazi K, Lipton A, Mariette X, et al. Randomized phase II trial of denosumab in patients with bone metastases from prostate cancer, breast cancer, or other neoplasms after intravenous bisphosphonates. *J Clin Oncol.* 2009;27(10):1564-1571.
125. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature.* 2003;423(6937):337-342.
126. Baud'Huin M, Lamoureux F, Duplomb L, Rédini F, Heymann D. RANKL, RANK, osteoprotegerin: Key partners of osteoimmunology and vascular diseases. *Cellular and molecular life sciences.* 2007;64(18):2334-2350.
127. Teitelbaum SL. Osteoclasts: What do they do and how do they do it? *The American journal of pathology.* 2007;170(2):427-435.
128. Hofbauer LC, Heufelder AE. Role of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and osteoprotegerin in bone cell biology. *Journal of Molecular Medicine.* 2001;79(5-6):243-253.
129. Reddy GK, Mughal TI, Roodman GD. Novel approaches in the management of myeloma-related skeletal complications. *Supportive cancer therapy.* 2006;4(1):15-18.

130. Romas E. Clinical applications of RANK-ligand inhibition. *Intern Med J*. 2009;39(2):110-116.
131. Bekker PJ, Holloway DL, Rasmussen AS, et al. A single-dose placebo-controlled study of AMG 162, a fully human monoclonal antibody to RANKL, in postmenopausal women. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2004;19(7):1059-1066.
132. Brown JP, Prince RL, Deal C, et al. Comparison of the effect of denosumab and alendronate on BMD and biochemical markers of bone turnover in postmenopausal women with low bone mass: A randomized, blinded, phase 3 trial. *Journal of bone and mineral research*. 2009;24(1):153-161.
133. Lipton A, Steger GG, Figueroa J, et al. Extended efficacy and safety of denosumab in breast cancer patients with bone metastases not receiving prior bisphosphonate therapy. *Clin Cancer Res*. 2008;14(20):6690-6696.
134. Qi W, Tang L, He A, Yao Y, Shen Z. Risk of osteonecrosis of the jaw in cancer patients receiving denosumab: A meta-analysis of seven randomized controlled trials. *International journal of clinical oncology*. 2014;19(2):403-410.
135. Scagliotti GV, Hirsh V, Siena S, et al. Overall survival improvement in patients with lung cancer and bone metastases treated with denosumab versus zoledronic acid: Subgroup analysis from a randomized phase 3 study. *Journal of Thoracic Oncology*. 2012;7(12):1823-1829.
136. Taylor K, Middlefell L, Mizen K. Osteonecrosis of the jaws induced by anti-RANK ligand therapy. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2010;48(3):221-223.
137. Aghaloo TL, Dry SM, Mallya S, Tetradis S. Stage 0 osteonecrosis of the jaw in a patient on denosumab. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2014;72(4):702-716.
138. Matsushita Y, Hayashida S, Morishita K, et al. Denosumab-associated osteonecrosis of the jaw affects osteoclast formation and differentiation: Pathological features of two cases. *Molecular and clinical oncology*. 2016;4(2):191-194.
139. Tenore G, Palaia G, Gaimari G, et al. Medication-related osteonecrosis of the jaws (MRONJ): Etiological update. *Senses Sci*. 2014;1(10):147-152.
140. Schwartz HC, Kagan AR. Osteoradionecrosis of the mandible: Scientific basis for clinical staging. *American journal of clinical oncology*. 2002;25(2):168-171.
141. Liu M, Mao X, Ye C, Huang H, Nicholson JK, Lindon JC. Improved WATERGATE pulse sequences for solvent suppression in NMR spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance*. 1998;132(1):125-129.
142. Khosla S, Burr D, Cauley J, et al. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: Report of a task force of the american society for bone and mineral research. *J Bone Miner Res*. 2007;22(10):1479-1491. doi: 10.1359/jbmr.0707onj.

143. Bagan JV, Jimenez Y, Diaz JM, et al. Osteonecrosis of the jaws in intravenous bisphosphonate use: Proposal for a modification of the clinical classification. *Oral Oncol.* 2009;45(7):645-646. doi: 10.1016/j.oraloncology.2008.05.011; 10.1016/j.oraloncology.2008.05.011.
144. Otto S, Schreyer C, Hafner S, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws - characteristics, risk factors, clinical features, localization and impact on oncological treatment. *J Craniomaxillofac Surg.* 2012;40(4):303-309. doi: 10.1016/j.jcms.2011.05.003; 10.1016/j.jcms.2011.05.003.
145. Otto S, Schreyer C, Hafner S, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws - characteristics, risk factors, clinical features, localization and impact on oncological treatment. *J Craniomaxillofac Surg.* 2012;40(4):303-309. doi: 10.1016/j.jcms.2011.05.003; 10.1016/j.jcms.2011.05.003.
146. Hoff AO, Toth B, Hu M, Hortobagyi GN, Gagel RF. Epidemiology and risk factors for osteonecrosis of the jaw in cancer patients. *Ann N Y Acad Sci.* 2011;1218:47-54. doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05771.x; 10.1111/j.1749-6632.2010.05771.x.
147. King AE, Umland EM. Osteonecrosis of the jaw in patients receiving intravenous or oral bisphosphonates. *Pharmacotherapy.* 2008;28(5):667-677. doi: 10.1592/phco.28.5.667; 10.1592/phco.28.5.667.
148. Bagan J, Scully C, Sabater V, Jimenez Y. Osteonecrosis of the jaws in patients treated with intravenous bisphosphonates (BRONJ): A concise update. *Oral Oncol.* 2009;45(7):551-554. doi: 10.1016/j.oraloncology.2009.01.002; 10.1016/j.oraloncology.2009.01.002.
149. Vandone AM, Donadio M, Mozzati M, et al. Impact of dental care in the prevention of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: A single-center clinical experience. *Ann Oncol.* 2012;23(1):193-200. doi: 10.1093/annonc/mdr039; 10.1093/annonc/mdr039.
150. Bocanegra-Perez MS, Vicente-Barrero M, Sosa-Henriquez M, et al. Bone metabolism and clinical study of 44 patients with bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2012;17(6):e948-55.
151. Bonacina R, Mariani U, Villa F, Villa A. Preventive strategies and clinical implications for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: A review of 282 patients. *J Can Dent Assoc.* 2011;77:b147.
152. Mozzati M, Martinasso G, Maggiora M, et al. Oral mucosa produces cytokines and factors influencing osteoclast activity and endothelial cell proliferation, in patients with osteonecrosis of jaw after treatment with zoledronic acid. *Clin Oral Investig.* 2013;17(4):1259-1266. doi: 10.1007/s00784-012-0800-7; 10.1007/s00784-012-0800-7.
153. Bamias A, Kastiris E, Bamia C, et al. Osteonecrosis of the jaw in cancer after treatment with bisphosphonates: Incidence and risk factors. *J Clin Oncol.* 2005;23(34):8580-8587. doi: 10.1200/JCO.2005.02.8670.
154. McLeod NM, Patel V, Kusanale A, Rogers SN, Brennan PA. Bisphosphonate osteonecrosis of the jaw: A literature review of UK policies versus international policies on

the management of bisphosphonate osteonecrosis of the jaw. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2011;49(5):335-342. doi: 10.1016/j.bjoms.2010.08.005; 10.1016/j.bjoms.2010.08.005.

155. Jimenez-Soriano Y, Bagan JV. Bisphosphonates, as a new cause of drug-induced jaw osteonecrosis: An update. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2005;10 Suppl 2:E88-91.

156. Sedghizadeh PP, Kumar SK, Gorur A, Schaudinn C, Shuler CF, Costerton JW. Identification of microbial biofilms in osteonecrosis of the jaws secondary to bisphosphonate therapy. *J Oral Maxillofac Surg*. 2008;66(4):767-775. doi: 10.1016/j.joms.2007.11.035; 10.1016/j.joms.2007.11.035.

157. Russmueller G, Seemann R, Weiss K, et al. The association of medication-related osteonecrosis of the jaw with actinomyces spp. infection. *Scientific Reports*. 2016;6:31604.

158. Kaplan I, Anavi K, Anavi Y, et al. The clinical spectrum of actinomyces-associated lesions of the oral mucosa and jawbones: Correlations with histomorphometric analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108(5):738-746. doi: 10.1016/j.tripleo.2009.06.019; 10.1016/j.tripleo.2009.06.019.

159. Marx RE. Reconstruction of defects caused by bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009;67(5 Suppl):107-119. doi: 10.1016/j.joms.2008.12.007; 10.1016/j.joms.2008.12.007.

160. Anavi-Lev K, Anavi Y, Chaushu G, Alon DM, Gal G, Kaplan I. Bisphosphonate related osteonecrosis of the jaws: Clinico-pathological investigation and histomorphometric analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2013;115(5):660-666. doi: 10.1016/j.oooo.2013.03.001; 10.1016/j.oooo.2013.03.001.

161. Kaplan I, Anavi K, Anavi Y, et al. The clinical spectrum of actinomyces-associated lesions of the oral mucosa and jawbones: Correlations with histomorphometric analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108(5):738-746. doi: 10.1016/j.tripleo.2009.06.019; 10.1016/j.tripleo.2009.06.019.

162. Biasotto M, Chiandussi S, Dore F, et al. Clinical aspects and management of bisphosphonates-associated osteonecrosis of the jaws. *Acta Odontol Scand*. 2006;64(6):348-354.

163. Naik NH, Russo TA. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: The role of actinomyces. *Clin Infect Dis*. 2009;49(11):1729-1732.

164. Bagan J, Blade J, Cozar JM, et al. Recommendations for the prevention, diagnosis, and treatment of osteonecrosis of the jaw (ONJ) in cancer patients treated with bisphosphonates. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2007;12(4):E336-40.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado para pacientes a tratamiento con bifosfonatos.

Anexo 2. Protocolo de seguimiento de pacientes a tratamiento con bifosfonatos

Anexo 3. Pacientes a estudio en la detección del bifosfonato en orina mediante RMN

Anexo 4. Protocolo de decisiones terapéuticas relacionadas con el consumo de bifosfonatos.

Consejo de Dentistas

Anexo 5. Diagnóstico, prevención y tratamiento de la osteonecrosis de los maxilares por bifosfonatos. Recomendaciones de a **SECOM**

Anexo 6. Vidal-Real C, Pérez-Sayáns M, Suárez-Peñaranda JM, Gándara-Rey JM, García-García A. Osteonecrosis of the jaws in 194 patients who have undergone intravenous bisphosphonate therapy in Spain. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2015 May. 1;20(3):e267-72. Factor de impacto (JCR 2014): 1.171.

Anexo 7. Carmen Vidal Real, Mario Pérez Sayáns, José M Suárez Peñaranda, Fernanda Pardo Sanchez, Pilar Gándara Vila, Andrés Blanco Carrión, Abel García García. Role of microbiota and inflammation in osteonecrosis of the jaw. Int J Clin Exp Pathol 2016;9(3). Factor de impacto (JCR 2015): 1.581



Anexo 1. Consentimiento informado para pacientes a tratamiento con bifosfonatos.

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PACIENTES QUE TOMEN O HAYAN TOMADO BISFOSFONATOS ORALES Y TENGAN QUE SER SOMETIDOS A ALGÚN PROCEDIMIENTO DE CIRUGÍA ORAL

En cumplimiento de la Ley 41/2002, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, se le presenta para su firma el siguiente documento: Yo, D./D^a:..... con DNI:..... como paciente (en caso de menores o incapacitados consignar el nombre y DNI del padre, madre, tutor o persona responsable) D./D^a:..... DNI:, ha sido informado/a por el Dr. (.....), Col. N°: (.....) de (.....), sobre los riesgos asociados a la toma de bifosfonatos orales junto al procedimiento quirúrgico que necesito.

Me doy por enterado/a de los siguientes puntos relativos a dicho procedimiento: Los bisfosfonatos son medicamentos empleados para evitar la pérdida de masa ósea. En toma oral suelen utilizarse para el tratamiento de la osteoporosis y de otras patologías óseas como la enfermedad de Paget. Dado que usted consume o ha consumido en los últimos tres años este medicamento, debe informar a su dentista/cirujano maxilofacial del tiempo durante el que lo ha tomado y cuándo dejó de hacerlo. También debe informar al dentista/cirujano maxilofacial de la causa por la que lo tomó. Si tiene alguna duda respecto a cualquiera de estas cuestiones debe consultar con el médico responsable de su tratamiento o su médico de cabecera.

La realización de procedimientos de cirugía oral en pacientes que tomen o hayan tomado bisfosfonatos orales durante al menos tres años, se ha asociado en algunas ocasiones a una patología denominada "osteonecrosis de los maxilares". Esta patología consiste en una necrosis (pérdida de vitalidad) del hueso maxilar o mandibular que puede ser potencialmente grave. El riesgo de que ocurra esta "osteonecrosis de los maxilares" tras un procedimiento de cirugía oral en pacientes que tomen o hayan tomado bisfosfonatos es bajo. Se estima entre el 0,01-0,04% de los casos. Es realmente infrecuente pero debe conocerlo.

Bajo ninguna circunstancia debe usted interrumpir el tratamiento mediante bisfosfonatos orales sin indicación expresa del médico que se los prescribió, ya que podría usted empeorar la patología de base. Durante los tres primeros años de tratamiento con bisfosfonatos orales el riesgo de necrosis de los maxilares es inexistente, y por tanto, usted debe aprovechar este periodo para iniciar y mantener un riguroso control sobre su higiene y salud bucodental, solicitando una valoración por parte de su dentista/cirujano maxilofacial, que deberá diagnosticar la existencia de posibles focos infecciosos presentes y futuros, y proceder a su tratamiento durante ese periodo, en el que todavía se podrá realizar cualquier procedimiento curativo o preventivo, incluyendo la extracción de aquellos dientes con un pronóstico incierto.

Debe usted cumplir meticulosamente los consejos y pautas de tratamiento dados por su dentista/cirujano maxilofacial y deberá consultar cualquier eventualidad que ocurra y que le parezca anormal. Si se somete a algún tratamiento bucodental, debe acudir a la revisión de la zona tratada y a retirar los puntos de sutura, si procede, en el plazo que se le ha indicado, y siempre que tenga cualquier tipo de molestia o duda sobre el tratamiento. Un factor de protección frente a esta patología es el mantenimiento exquisito de la higiene oral.

Yo D./D^a:..... como paciente (y si procede)
D./D^a:..... (como padre, madre, tutor o persona responsable), he sido informado/a por el Dr. (.....), mediante un lenguaje claro y sencillo, me ha dado respuesta a cuantas observaciones he formulado, aclarando todas las dudas, por lo cual comprendo el alcance y el significado de dicha información y consiento en realizarme el procedimiento de cirugía oral descrito en el plan de tratamiento. También he sido informado/a de la posibilidad de rechazar este consentimiento por escrito en cualquier momento, haciendo frente a los gastos ocasionados hasta ese momento.

Santiago a ,.....de.....de 20.....

El paciente (padre madre o tutor)

El Odontólogo informante

[illegible]

N° HIST:

FECHA:

APELLIDOS: _____ NOMBRE: _____

a) TRATAMIENTO CON BIFOSFONATOS

NOMBRE COMERCIAL: _____ P. ACTIVO: _____

DOSIS Y PAUTA ACTUAL (iv/oral-intervalo): _____

[illegible]

C: caries
E: endodoncia
P: periodontal
X: ausente
I: incluido
PF: protesis fija
O: obturado
M: movilidad

Observaciones:

Próxima cita: _____

a) TRATAMIENTO CON BIFOSFONATOS

NOMBRE COMERCIAL: _____ P. ACTIVO: _____

DOSIS Y PAUTA ACTUAL (iv/oral-intervalo): _____

[illegible]

C: caries
E: endodoncia
P: periodontal
X: ausente
I: incluido
PF: protesis fija
O: obturado
M: movilidad

Observaciones:

Próxima cita: _____

PROTOCOLO DE BIFOSFONATOS (Master Med.Oral Cirugía Oral e Implantología)

Nº HIST: _____

FECHA: _____

OSTEONECROSIS: Fecha inicio: _____ Fecha actual: _____

-Signos y Síntomas iniciales: _____

-Tratamientos previos en la zona: Si ☐ / No ☐

-Focos Presentes: _____

-Dientes asociados: _____

-Biopsia: Si ☐ / No ☐ Resultado: _____

-Extensión de la lesión (TAC): _____

-Infección asociada: Si ☐ / No ☐ Tratamiento previo: Si ☐ / No ☐ Responde: Si ☐ / No ☐

-Antibiograma: Si ☐ / No ☐

Sensible a: _____

-Pauta _____

-Cultivo/Frotis: Si ☐ / No ☐ Resultado: + / - Id: _____

-Pauta _____

-Complicaciones:

-Fractura: Si ☐ / No ☐

-Fístula extraoral: Si ☐ / No ☐

-Comunicación Bucosinusal (fístula oroantral) / buconasal: Si ☐ / No ☐ Sinusitis: Si ☐ / No ☐

-Extensión borde inferior/rama mandibular: Si ☐ / No ☐

-Tratamiento de las complicaciones: Si ☐ / No ☐

Estadía: * De Riesgo ☐ Grado 0 ☐ Grado 1 ☐ Grado 2 ☐ Grado 3 ☐
** Grado 1 ☐ Grado 2a ☐ Grado 2b ☐ Grado 3 ☐

**Clasificación de Ruggiero: De riesgo: paciente tratado con bff pero sin necrosis ósea aparente. Grado 0: Sin evidencias clínicas de necrosis, pero hallazgos radiológicos y clínicos inespecíficos. Grado 1: Hueso expuesto necrótico o fístula en paciente asintomático. Grado 2: Hueso expuesto necrótico o fístula en paciente sintomático. Grado 3: Hueso expuesto necrótico o fístula en paciente sintomático y con 1 o más de los siguientes signos: extensión de la necrosis más allá de la zona alveolar (cigoma, seno maxilar, borde inferior de la mandíbula, rama mandibular), fractura ósea, fístula extraoral, comunicación seno/fosa nasal.*

***Clasificación de Bagán: Grado 1: Asintomático con hueso expuesto o fístula intraoral. Grado 2 a: Sintomático con hueso expuesto o fístula intraoral que responde a tratamiento conservador. Grado 2 b: Sintomático con hueso expuesto o fístula intraoral que no responde a tratamiento conservador. Grado 3: fractura, afección del dentario, afección borde inferior mandibular, comunicación con seno maxilar.*

-Pauta de actuación: _____

- Próxima cita: _____

Anexo 3. Pacientes a estudio en la detección del bifosfonato en orina mediante RMN

Paciente	Sexo	Edad	Tipo Tumor	BFF	Dosis	Tiempo de tto	Medicación Asociada	Muestra
1	H	77	prostata	Zometa	4 mg	5,5 años	corticoides y tto hormonal	Antes y después
2	H	81	prostata	Zometa	4 mg	2 años	terapia hormonal	Antes y después
3	H	70	prostata	Zometa	4 mg	1,5 años	quimioterapico y corticoides	Antes
4	H	64	mieloma multiple	Zometa	4 mg	6 meses	corticoides y inmunomodulador	Después
5	H	67	mieloma multiple	Zometa	4 mg	6 años	quimioterapico y corticoides	Después
6	M	76	mama	Zometa	4 mg	3 años	ac monoclonales	Antes y después
7	M	67	pulmon	Zometa	4 mg	4 meses	x	Después
8	M	66	pulmon	Zometa	4 mg	1,5 años	corticoides y tto hormonal	Antes
9	M	58	mama	Zometa	4 mg	1 año	tto hormonal y corticoides	Después
10	H	70	prostata	Zometa	4 mg	1,5 años	quimioterapico y corticoides	Antes y después
11	M	39	mama	Zometa	4 mg	5 meses	quimioterapico	Antes y después
12	M	78	mieloma multiple	Zometa	4 mg	3,5 años	ac monoclonal, quimioterapico y corticoides	Antes y después
13	M	55	mama	Zometa	4 mg	3,5 años	ac monoclonal y quimioterapia	Antes y después
14	M	45	mama	Zometa	4 mg	5 meses	quimioterapico y tto hormonal	Antes y después
15	M	76	mama	Zometa	4 mg	2,7 años	corticoides, terapia hormonal y corticoides	Antes
16	H	62	mieloma multiple	Zometa	4 mg	1 año	corticoides	Antes y después

Anexo 4. Protocolo de decisiones terapéuticas relacionadas con el consumo de bifosfonatos. Consejo de Dentistas



Protocolos clínicos aceptados: Bifosfonatos

Página 1

PROTOCOLO DE DECISIONES TERAPÉUTICAS RELACIONADAS CON EL CONSUMO DE BISFOSFONATOS

El presente Protocolo Clínico Aceptado por Ilustre Consejo General de Colegios de Odontólogos y Estomatólogos de España, o Guía de Práctica Clínica, como todos los demás, sólo persigue un fin informativo y tiene carácter meramente orientador, por lo que su aplicación es voluntaria, al mejor criterio del facultativo.

Este protocolo se basa en el estado presente de la información científica sobre el desencadenamiento de osteoquimionecrosis de los maxilares relacionada con tratamientos odontológicos en pacientes sometidos a tratamientos con bisfosfonatos, tanto por vía oral como intravenosa.

La relación entre la Osteonecrosis de los Maxilares y el tratamiento con Bisfosfonatos (en siglas, OMB) fue detectada por primera vez en 2002, y notificada por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios en 2005. A día de hoy, al estar perfectamente establecida esta relación, entendemos que los facultativos médicos que prescriban estos medicamentos debe advertir a los pacientes de este riesgo, cuya prevalencia se nos revela cada vez mayor, al objeto de que puedan practicar el derecho a decidir sobre sí y asumir las consecuencias de su patología ósea de base en caso de que no desee correr los riesgos de la OMB. Pero el hecho es que, una vez iniciado el tratamiento con bisfosfonatos, tanto si el paciente ha sido informado como si no, es frecuente que haya que afrontar patología odontológica con procedimientos clínicos que comporten riesgo de OMB.

El presente protocolo clínico aceptado trata de orientar sobre los riesgos de OMB relacionados con diversos procedimientos odontológicos o estomatológicos, y de la eventual valía de algunas posibles precauciones o profilaxis.

Codificación

Representamos en **negrita** las posiciones que mayoritariamente se consideran más aceptadas, pero conviene destacar que aún falta mucha "evidencia científica" (expresión incorrecta, dimanada del falso amigo inglés "evidence", que realmente equivale a "experiencia" o prueba) para disponer de criterios objetivos, por lo que muchas de las citadas posiciones tienen carácter subjetivo, inseguro, y se basa en conferencias de consenso que no están desprovistas de subjetividad y error.

CONSEJO DENTISTAS

Organización Colegial de Dentistas de España

Calle de Alcalá, 79 - 2º - 28009 Madrid

Teléfono 914 264 410 | Fax 915 770 639

info@consejodentistas.es | www.consejodentistas.es



Protocolos clínicos aceptados: Bisfosfonatos

Página 2

Por eso resaltamos que es, finalmente, el criterio del facultativo el que, en atención a las circunstancias particulares de caso, y aunque sin desconocimiento de las posturas más aceptada, debe primar.

DECISIONES TERAPÉUTICAS RELACIONADAS CON EL CONSUMO DE BISFOSFONATOS (en negrita, posiciones actualmente aceptadas)

TIPO DE TRATAMIENTO ODONTOLÓGICO	ANTES DE INICIAR LA ADMINISTRACIÓN DE BISFOSFONATOS	EN TRATAMIENTO CON BISFOSFONATOS POR VÍA ORAL	EN TRATAMIENTO CON BISFOSFONATOS POR VÍA I.V.
OBTURACIONES:	Procedimiento teóricamente seguro (criterio teórico; baja "evidencia" científica)	Procedimiento teóricamente seguro (criterio teórico; sin "evidencia" científica)	Procedimiento teóricamente seguro (criterio teórico; sin "evidencia" científica)
- en dientes con pronóstico dudoso	Considerar la exodoncia (criterio teórico; baja "evidencia" científica)	Considerar la exodoncia (criterio teórico; baja "evidencia" científica)	—
TRATAMIENTO DE CONDUCTOS	Procedimiento teóricamente seguro (criterio teórico; baja "evidencia" científica)	Procedimiento probablemente seguro (criterio teórico; baja "evidencia" científica)	Procedimiento probablemente seguro (criterio teórico; baja "evidencia" científica) Riesgo de desencadenar OMB (insuficiente evidencia científica)
- en dientes con pronóstico dudoso	Considerar la exodoncia (criterio teórico; baja "evidencia" científica)	—	—
TRATAMIENTO PERIODONTAL BÁSICO	Procedimiento teóricamente seguro (criterio teórico; baja "evidencia" científica)	Procedimiento no contraindicado (relativamente seguro, en teoría) (criterio teórico; baja "evidencia" científica)	Contraindicado el procedimiento quirúrgico ("evidencia" científica significativa)
CIRUGÍA ORAL	Procedimiento teóricamente seguro (criterio teórico; baja "evidencia" científica)	Procedimiento no contraindicado (relativamente seguro, en teoría) (criterio teórico; baja "evidencia" científica)	Contraindicado ("evidencia" científica significativa)

Calle de Alcalá, 79 - 2º - 28009 Madrid

CONSEJO DENTISTAS

Organización Colegial de Dentistas de España

Teléfono 914 264 410 | Fax 915 770 639

info@consejodentistas.es | www.consejodentistas.es



Protocolos clínicos aceptados: Bifosfonatos

Página 3

- Precauciones	Con la posología de los bifosfonatos	Esperar 4-8 semanas antes de iniciar la administración de bifosfonatos (criterio teórico; baja "evidencia" científica)	Suspender bifosfonatos de 1-3 meses antes a tres meses después (precaución teórica sin validez soportada científicamente)	Suspender bifosfonatos de 1-3 meses antes a tres meses después (precaución teórica sin validez soportada científicamente)
	Con la temporalización del tratamiento	—	Tratar un cuadrante y esperar dos meses (criterio teórico sin soporte científico)	Limitar el tratamiento a los tres primeros meses (criterio sin soporte científico)
- Prueba del CTX (si CTX < 150 pg/ml, diferir la cirugía y repetir posteriormente)		—	Prueba sin validez soportada científicamente	Prueba sin validez soportada científica
- Técnicas alternativas		—	Técnicas quirúrgicas conservadoras (criterio teórico, sin "evidencia" científica)	Técnicas quirúrgicas conservadoras (criterio teórico, sin "evidencia" científica)
- Antisépsia:		—	Clorhexidina desde antes hasta dos meses después (Criterio clínico; validez sin "evidencia" científica)	Clorhexidina desde antes hasta dos meses después (Criterio clínico; validez sin "evidencia"
- Antibioterapia en procedimientos extensos, abscesos, infecciones...:		—	Amoxicilina + metronidazol, o clindamicina, desde 2 días antes a 14 después. (criterio sin evidencia científica; Riesgo de resistencias y de alergias).	Amoxicilina + metronidazol, o clindamicina, desde 2 días antes a 14 después. (criterio sin evidencia científica; Riesgo de resistencias y de alergias).
REHABILITACIÓN PROTÉSICA		Procedimiento teóricamente seguro (criterio teórico; baja "evidencia" científica)	Procedimiento probablemente seguro (criterio teórico; baja "evidencia" científica)	Procedimiento probablemente seguro (criterio teórico; baja "evidencia" científica)
- Precauciones		Prevenir trauma de las mucosas (criterio teórico; sin evidencia científica)	Prevenir trauma de las mucosas (criterio teórico; sin evidencia científica)	Prevenir trauma de las mucosas (criterio teórico; sin evidencia científica)
TRATAMIENTO ORTODÓNCICO		Procedimiento seguro (criterio teórico; baja "evidencia" científica)	Procedimiento probablemente seguro (criterio teórico; baja "evidencia" científica)	Procedimiento probablemente seguro (criterio teórico; baja "evidencia" científica)
- Precauciones:		Esperar 4-8 semanas antes de iniciar la administración de bifosfonatos (criterio teórico; baja "evidencia" científica)	—	—

Anexo 5. Diagnóstico, prevención y tratamiento de la osteonecrosis de los maxilares por bifosfonatos.
Recomendaciones de a **SECOM**



DIAGNÓSTICO, PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA OSTEONECROSIS DE LOS MAXILARES POR BISFOSFONATOS. RECOMENDACIONES DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CIRUGÍA ORAL Y MAXILOFACIAL (SECOM)*

*Este documento ha sido elaborado por el Prof. Dr. Junquera LM y aprobado el día 22 de mayo del 2008, por la Comisión Científica de la SECOM, compuesta por los Dres. Acero J, Burgueño M, de Vicente JC, Martín-Granizo R, Santamaría J, Infante P, Raspall G. y López Cedrún JL.

INTRODUCCIÓN

Los bisfosfonatos son análogos estables de los pirofosfatos inorgánicos que han demostrado su eficacia para el tratamiento de diversas patologías, como las lesiones osteolíticas asociadas a metástasis óseas o al mieloma múltiple, la hipercalcemia maligna, la enfermedad de Paget y la osteoporosis. Es importante para el clínico conocer los diferentes tipos de aminobisfosfonatos comercializados, así como su potencia relativa. En la tabla I se recopilan las principales características de los fármacos actualmente autorizados y su nombre comercial aunque la industria está en continua evolución. La constatación, en la pertinente historia clínica, de la utilización de alguno de estos fármacos, constituye el punto de partida de todas las medidas de diagnóstico y profilaxis de la osteonecrosis de los maxilares en relación con el empleo de bisfosfonatos (OMRB).



A finales del año 2003 y comienzos del 2004 se recogieron en la literatura científica los primeros casos que evidenciaban una asociación entre la administración de aminobisfosfonatos intravenosos y la presentación de exposiciones óseas de evolución tórpida en los huesos maxilares. En la actualidad se podría hablar, al menos académicamente, de dos entidades con diferentes grados de información científica: las osteonecrosis en relación con la administración intravenosa de estos medicamentos y las osteonecrosis en relación con la administración oral de los mismos. Para el primer grupo las estrategias de prevención y tratamiento empiezan a estar consolidadas, mientras que para el segundo se precisará de una mayor documentación científica para alcanzar este objetivo. En la tabla II se recogen las principales diferencias entre estas dos entidades.

Factores de riesgo

Los factores de riesgo que se relacionan con la presentación de las OMRB pueden simplificarse de la siguiente manera:

1. Los pacientes con mieloma múltiple (MM) tienen el mayor riesgo de presentación de OMRB, que se incrementa un 9% por cada década que aumente la edad. En segundo lugar estarían las pacientes con cáncer de mama.
2. Los pacientes con tratamiento concomitante con corticoesteroides parecen tener un mayor riesgo de osteonecrosis.



3. La vía intravenosa en pacientes oncológicos, los bisfosfonatos de mayor potencia (ácido zoledrónico), y un mayor tiempo de empleo y/o dosis se asocian con una mayor frecuencia de presentación de OMRB.
4. Las osteonecrosis suelen presentarse en pacientes que han tomado bisfosfonatos orales durante más de tres años, con un tiempo medio de consumo de 5,6 años (rango: 3,3-10,2 años). En cambio, el tiempo de utilización de los pacientes con osteonecrosis en relación con los bisfosfonatos intravenosos puede ser inferior a 1 año (9,3 meses para el ácido zoledrónico y 14,1 meses para el pamidronato).
5. En las osteonecrosis en relación con los aminobisfosfonatos intravenosos los antecedentes de cirugía dentoalveolar multiplican por siete la posibilidad de presentación de OMRB, mientras la presencia de patología inflamatoria (dental o periodontal) incrementa en el mismo porcentaje esta posibilidad.
6. En las osteonecrosis en relación con aminobisfosfonatos orales, mucho más infrecuentes, el 50% de los casos se presentan espontáneamente (sin antecedentes de cirugía dentoalveolar), localizándose mayoritariamente en los segmentos posteriores de la mandíbula.
7. Los efectos de los aminobisfosfonatos intravenosos sobre el hueso pueden persistir incluso 10 años después de suspendido el tratamiento.
8. La utilización de aminobisfosfonatos intravenosos para las indicaciones clásicas de los orales (osteoporosis, prevención de fracturas de cadera y vertebrales: Zometa, 5 mg una dosis anual, durante tres años), parece



9. tener el mismo comportamiento con respecto a las osteonecrosis que el empleo de bisfosfonatos orales.
10. Otros tratamientos o enfermedades concurrentes (Diabetes, Tabaco, Alcohol, Higiene oral, Quimioterapia...), pueden suponer un incremento en el riesgo.

OBJETIVOS

1. Facilitar el diagnóstico clínico y complementario de las osteonecrosis por bisfosfonatos por parte de los especialistas de la salud oral (Cirujanos orales y maxilofaciales, odontólogos y estomatólogos).
2. Explicitar las medidas preventivas más apropiadas para limitar el número de casos de esta patología, a la luz de los conocimientos actuales.
3. Detallar la forma de tratamiento más reconocida para los diferentes estadios de la osteonecrosis, una vez establecida.
4. Proporcionar un documento para la buena praxis médica y odontológica en los pacientes que padecen esta enfermedad o estén en riesgo de sufrirla.

CRITERIOS DIAGNÓSTICOS. DEFINICIÓN DE CASO.

Al objeto de diferenciar la osteonecrosis de los maxilares en relación con bisfosfonatos (OMRB) de otras patologías que cursen con exposiciones óseas y retrasos en la cicatrización de los procesos alveolares, se deben de tener en cuenta los siguientes criterios de diagnóstico e inclusión:



Criterios clínicos

1. Paciente que ha recibido, está recibiendo o recibió bisfosfonatos intravenosos u orales sin antecedentes previos de radioterapia en el territorio maxilofacial. La existencia de un antecedente previo de radioterapia cérvico-facial conllevará un diagnóstico diferencial comprometido entre una osteonecrosis física, química o mixta.
2. Presencia de una o varias lesiones ulceradas con exposición ósea en el maxilar superior y/o la mandíbula de más de ocho semanas de evolución (AAOMS, 2006).
3. Esta exposición ósea puede ser asintomática y autolimitada en su tamaño, o acompañarse de dolor, aumento en su extensión y formación de sequestratos óseos.
4. Algunos casos de OMRB pueden presentarse sin una exposición ósea franca, predominando el dolor de origen no filiado, con o sin pequeñas fistulas orales.

Pruebas complementarias

1. Ortopantomografía. Técnica de imagen más utilizada. Puede no aportar información en estadios precoces de la OMRB.
2. Tomografía Computarizada (TC). Puede posibilitar un diagnóstico precoz, y definir la verdadera extensión de la osteonecrosis, confirmando también el estadio clínico y, por lo tanto, orientando hacia el tratamiento específico para cada caso. La Resonancia



3. Magnética (RM) una técnica complementaria para valorar la afectación del hueso medular y partes blandas.
4. Cultivos microbiológicos y antibiograma.

Estudio histológico. Biopsia

1. La biopsia del hueso expuesto se hará obligatoriamente ante la sospecha de que el origen de la lesión guarde relación con la patología que motivó la utilización intravenosa de los bisfosfonatos, de modo primario o metastático, especialmente si se trata de enfermos con antecedentes de mieloma múltiple.
2. En los pacientes en tratamiento con bisfosfonatos orales se deberá hacer una biopsia ante la mínima sospechosa clínica de que se trate de un carcinoma epidermoide oral, de acuerdo con las indicaciones habituales en estos casos..

PREVENCIÓN DE LA PATOLOGÍA

BISFOSFONATOS INTRAVENOSOS EN PACIENTES ONCOLÓGICOS

Una de las teorías patogénicas del ONRB es el depósito del fármaco en los osteoclastos, que explica por qué la dosis acumulada es un factor de riesgo en relación directa y por qué se puede encontrar ONRB en pacientes que han suspendido el tratamiento hace años. Por otro lado, no se han publicado casos



por debajo de los 6 meses de administración del fármaco. Por esto, podríamos considerar que el hueso durante las primeras semanas de tratamiento se comporta como sano, con idéntica capacidad de regeneración. Proponemos por tanto que no se contraindiquen los procedimientos invasivos que puedan ser necesarios durante los primeros 3 meses. Hay que tener en cuenta que la situación clínica de base de estos pacientes hace necesario el inicio inmediato del tratamiento por lo que este no podría diferirse por aplicar las medidas preventivas (hipercalcemia maligna, mieloma, metástasis osteolíticas...).

ANTES Y DURANTE LOS TRES PRIMEROS MESES DE LA ADMINISTRACIÓN DEL TRATAMIENTO INTRAVENOSO (AAOMS, 2007)

1. Los diferentes especialistas (oncólogos, hematólogos, ginecólogos, urólogos, etc.) deberían informar al paciente y su entorno sobre la importancia del mantenimiento de la salud bucal con relación al tratamiento y solicitar una valoración del paciente por parte del especialista en cirugía oral y maxilofacial o del odontólogo o estomatólogo, antes del inicio del tratamiento.
2. El especialista en salud oral deberá diagnosticar la existencia de focos infecciosos, tanto dento-alveolares como periodontales, presentes o futuros y recomendar y proceder a su inmediato tratamiento. Si precisara la realización de exodoncias deberá empezar su plan de tratamiento con este acto quirúrgico, al objeto de generar un intervalo de tiempo prudencial (15-20 días) entre la exodoncia y la primera administración intravenosa del bisfosfonato. Deberán ser exodonciados los dientes con un pronóstico incierto.



3. Respecto a la colocación de implantes intraóseos, no hay una recomendación explícita que lo contraindique ni *case reports* en que se
4. demuestre asociación entre un implante correctamente osteointegrado y ONRB. No se recomienda la colocación de implantes antes de la administración IV de bisfosfonatos si se espera que no haya finalizado el periodo de osteo-integración en ese momento.
5. El odontólogo/ estomatólogo deberá realizar todos los tratamientos no invasivos apropiados para alcanzar un buen nivel de salud oral, informando al paciente y a su entorno sobre la importancia de este objetivo como principal medida profiláctica de la OMRB. Estos tratamientos conservadores pueden realizarse durante la administración del bisfosfonato.
6. El dentista deberá evaluar y corregir la posible existencia de traumatismos protéticos, especialmente sobre las superficies linguales de la mandíbula. También debe evaluar y corregir la posible presencia de tori, exóstosis de gran tamaño y otras prominencias óseas en caso de riesgo de futuras complicaciones, especialmente en pacientes con prótesis removibles.
7. El dentista y el especialista médico, bajo cuyo criterio se instaurará el tratamiento intravenoso del aminobisfosfonato, deberán informar y concienciar al paciente sobre los riesgos relacionados con la cirugía dentoalveolar una vez que se ha instaurado el tratamiento así como



sobre la persistencia del riesgo de OMRB durante un largo periodo de tiempo después de su aplicación.

DURANTE LA ADMINISTRACIÓN DEL TRATAMIENTO INTRAVENOSO (DESPUÉS DE LOS PRIMEROS 3 MESES DE TRATAMIENTO)

1. Deberá evitarse la realización de cualquier tipo de cirugía oral e implantológica.
2. Ante la presencia de un foco infeccioso el tratamiento de los conductos debe ser la primera indicación, procurando un mínimo trauma periapical y periodontal. Valorar cobertura antibiótica.
3. El dentista deberá controlar periódicamente el estado de salud oral del paciente, manteniendo sus condiciones óptimas. Se recomiendan controles al menos cada seis meses.

DESPUÉS DEL TRATAMIENTO INTRAVENOSO

1. Deberá evitarse la realización de cualquier tipo de cirugía oral al menos durante un periodo no inferior a los 10 años de la última administración del bisfosfonato. Aunque es cierto que se ha demostrado la presencia de zoledrónico hasta 12 años después, no hay datos al respecto en la literatura de referencia y este punto permanece controvertido.
2. El dentista deberá motivar y mantener un riguroso control de la salud oral del paciente, durante largo tiempo.



BISFOSFONATOS ORALES O BISFOSFONATOS INTRAVENOSOS (ZOMETA) A UNA DOSIS ANUAL DURANTE TRES AÑOS

ANTES DE LA ADMINISTRACIÓN DEL TRATAMIENTO ORAL

1. Los diferentes especialistas que prescriben el tratamiento deben informar y recomendar a sus pacientes la evaluación de su salud oral antes del inicio del tratamiento.
2. Los especialistas en salud oral tienen un plazo de 3 años para alcanzar un óptimo estado de salud oral. Durante este periodo se podrá realizar todo tipo de tratamiento quirúrgico y rehabilitador, comenzando por los que requieran un mayor compromiso en el remodelado óseo.

DURANTE LA ADMINISTRACIÓN DEL TRATAMIENTO ORAL

(Debido al escaso nivel de evidencia disponible, las recomendaciones referentes a este tipo de administración oral deberán ser actualizadas constantemente)



Pacientes con menos de tres años de tratamiento y sin factores de riesgo

1. Los especialistas de la salud oral podrán realizar cualquier tipo de tratamiento quirúrgico y rehabilitador (implantología) que requiera el buen cuidado de su paciente.
2. Se deberá obtener un consentimiento informado que añada a los riesgos propios de cada cirugía, la osteonecrosis en relación con la ingesta del bisfosfonato oral.
3. Se deberá controlar periódicamente (al menos anualmente) el estado de salud oral.

Pacientes con menos de tres años de tratamiento, con factores de riesgo: administración concomitante de corticoides, edad por encima de los 70 años.

1. Sería recomendable, si las condiciones clínicas lo permiten, la suspensión del medicamento durante un periodo de tres meses antes de la realización de cualquier tipo de cirugía oral.
2. La reincorporación del tratamiento se realizará cuando la cicatrización de la cirugía efectuada haya concluido. En el caso de la cirugía implantológica se recomienda un plazo mínimo de tres meses.
3. La determinación sanguínea en ayunas del telopéptido C-terminal del colágeno tipo I (b-CTX) que rinda valores superiores a 150 pg/mL permitiría realizar cualquier tipo de cirugía con mínimo riesgo y sin la



4. necesidad de suspender el aminobisfosfonato. Sin embargo, este parámetro precisa de mayor evidencia científica para confirmar su validez.
5. Aunque es posible que la cirugía en el maxilar superior tenga una significativa menor incidencia de osteonecrosis, esto se encuentra
6. pendiente de una mayor evidencia científica, por lo que no podemos afirmar que las actuaciones agresivas sobre el maxilar no incrementen el riesgo de OMRB en esa localización.
7. Se debe obtener un consentimiento informado que añada a los riesgos propios de cada cirugía, la osteonecrosis en relación con la ingesta del bisfosfonato oral.
8. Controlar periódicamente (al menos anualmente) el estado de salud oral.

Pacientes con más de tres años de tratamiento, con o sin factores de riesgo.

1. Las mismas recomendaciones que en el grupo precedente.



TRATAMIENTO DE LA PATOLOGÍA INSTAURADA

Estadio 1: exposición de hueso necrótico, asintomática y sin signos de infección

1. Cuantificación en milímetros del tamaño de la exposición.
2. Sugerir, si fuera posible, la suspensión del aminobisfosfonato por parte del especialista que lo prescribió.
3. Pautar enjuagues con colutorio de clorhexidina al 0,12% o al 0,2% cada 12 horas durante 15 días.
4. Control evolutivo a los 15 días:
 - Igual o menor tamaño de exposición que en el momento del diagnóstico: mantener la misma pauta durante otros 15 días.
 - Incremento en el tamaño de la exposición, dolor o signos de infección: aplicar el tratamiento de estadio 2.
5. Control evolutivo al mes:
 - Mejoría o resolución: sugerir al especialista correspondiente la restauración del aminobisfosfonato si la situación clínica del paciente lo aconseja. Aplicar rigurosamente las normas de prevención.
 - Incremento en el tamaño de la exposición, dolor o signos de infección: aplicar el tratamiento de estadio 2.



Estadio 2: exposición de hueso necrótico, en pacientes con dolor y signos de infección. Podría incluirse en este estadio a aquellos pacientes con proceso doloroso en los maxilares no atribuible a otra causa y con signos radiológicos de osteonecrosis. No se aplicaría en estos casos el punto 1 de las siguientes recomendaciones.

1. Cuantificación en milímetros del tamaño de la exposición.
2. Recomendar, si fuera posible, la suspensión del aminobisfosfonato por parte del especialista que lo prescribió.
3. Pautar enjuagues con colutorio de clorhexidina al 0,12% o al 0,2% cada 12 horas durante 15 días.
4. Administrar antibioterapia oral de manera empírica (mientras no se disponga de resultados de cultivo y antibiograma):
 - Primera indicación: Amoxicilina/ácido clavulánico 2.000/125 mgrs. cada 12 horas, durante 15 días. En los protocolos de EEUU: Penicilina VK 500 mgrs. cada 8 horas.
 - Pacientes alérgicos a Penicilina: Levofloxacin 500 mgrs. cada 24 horas, durante 15 días. Alternativa: Azitromicina.
5. Administrar anti-inflamatorios no esteroideos (AINES) por vía oral.
6. Control evolutivo a los 15 días:
 - Menor tamaño de exposición, desaparición o mejoría del dolor, desaparición de los signos flogóticos: pasar a tratamiento de estadio 1.



- Persistencia o agravamiento de la sintomatología: Mantener la misma pauta de tratamiento durante otros 15 días. Solicitar estudio complementario: TC (aunque se disponga de estudio previo)

7. Control evolutivo al mes:

- Desaparición del dolor, desaparición de los signos flogóticos: pasar a tratamiento de estadio 1. Promover, si la situación clínica lo requiere, la reincorporación del tratamiento con el aminobisfosfonato. Aplicar rigurosamente las normas de prevención.
- Persistencia o agravamiento de la sintomatología: valorar la necesidad del tratamiento recomendado para el estadio 3.

Estadio 3: exposición de hueso necrótico, en pacientes con dolor, signos de infección y evidencia clínica o radiográfica de secuestro óseo u otra complicación (tal como fracturas).

1. Recomendar, si fuera posible, la suspensión del aminobisfosfonato por parte del especialista que lo prescribió.
2. Administrar antibioterapia oral y enjuagues con clorhexidina según la pauta recogida en el estadio 2.
3. Bajo anestesia local, si fuera posible, eliminar el secuestro óseo incluyendo, si precisara, la exodoncia de los dientes involucrados,



irrigación del lecho quirúrgico con clorhexidina 0,2% y cierre del defecto con material reabsorbible.

4. Control evolutivo a los 15 días:

- Evolución favorable: suspender la antibioterapia oral y los anti-inflamatorios. Mantener los enjuagues con el colutorio. Aplicar rigurosamente las normas de prevención sobre los dientes remanentes. Control a los 15 días.
- Evolución desfavorable (incremento en la exposición, dolor intenso, signos de infección): Mantener antibioterapia, enjuagues y anti-inflamatorios durante 15 días.

5. Control evolutivo al mes:

- Evolución favorable: Promover, si la situación clínica lo requiere, la reincorporación del tratamiento con el aminobisfosfonato. Aplicar rigurosamente las normas de prevención sobre dientes remanentes.
- Evolución desfavorable: Programar nueva cirugía, igualmente conservadora bajo anestesia local.
- En circunstancias graves con fracaso de todas las medidas previas pueden plantearse situaciones complejas en las que puede proponerse cirugía alternativa, siempre lo mas conservadora posible:

○



- Fractura patológica: legrado tejido óseo necrótico y placa de reconstrucción (evitar injertos)
- ON hasta borde inferior: resección en bloque y placa de reconstrucción (evitar injertos)
- Fístula extraoral: desbridamiento eliminando áreas de ON que produzcan irritación mucosa. Medidas médicas descritas.



Tabla I. Principales bisfosfonatos, vía de administración y potencia relativa.

NOMBRE GENÉRICO	NOMBRE COMERCIAL	VÍA DE ADMINISTRACIÓN	CASA COMERCIAL	POTENCIA RELATIVA
Pamidronato	Aredia®	Intravenosa	Novartis	100
	Linoten®		Mayne	
	Pamifos®		Madaus	
Ácido zoledrónico	Zometa®	Intravenosa	Novartis	100.000
	Aclasta®		Novartis	
Alendronato	Fosamax®	Oral	Merck	1.000
	Adronat®		Abello	
	Fosavance®		Merck	
Etidronato	Didronel®	Oral	Procter-Gamble	1
	Difosfen®		Rubio	
	Osteum®		Viñas	
Risedronato	Actonel®	Oral	Procter-Gamble	5.000
	Acrel®		P&G Pharmaceuticals	
	Losentra®		Aventis	
Tiludronato	Skelid®	Oral	Sanofi	10
Ibandronato	Boniva®	Oral	Roche	10.000
	Bonviva®	Intravenoso	Roche	



Tabla II. Principales diferencias entre las osteonecrosis por aminobisfosfonatos orales e intravenosos

	BISFOSFONATOS INTRAVENOSOS	BISFOSFONATOS ORALES
Incidencia	Relativamente frecuente: 0,8-12%	Muy infrecuente: 0,01-0,04%
Tiempo de administración	Corto: 9,3- 14,1 meses	Largo: 3,3-10,2 años
Localización	Mandíbula / maxilar superior / ambos Sectores posteriores	Mayoritariamente en mandíbula Sectores posteriores
Tamaño de exposición	Habitualmente mayor tamaño	Menor tamaño
Antecedente quirúrgico	70% de los casos	50% de los casos
Evolución	Impredecible. Sucesión de estadios	Más favorable



Figura 1

PROTOCOLO DIAGNÓSTICO

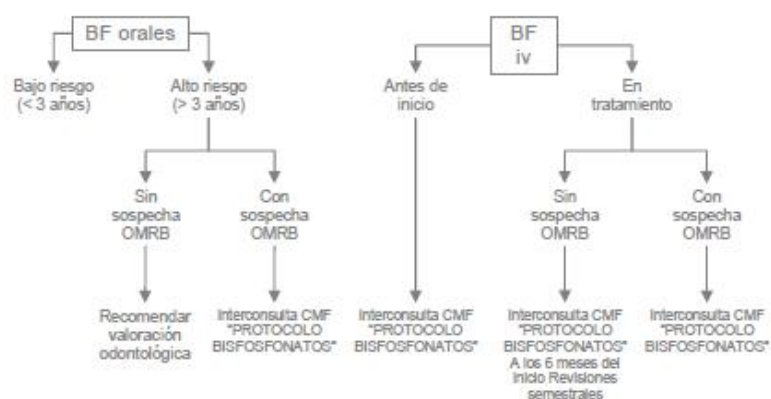
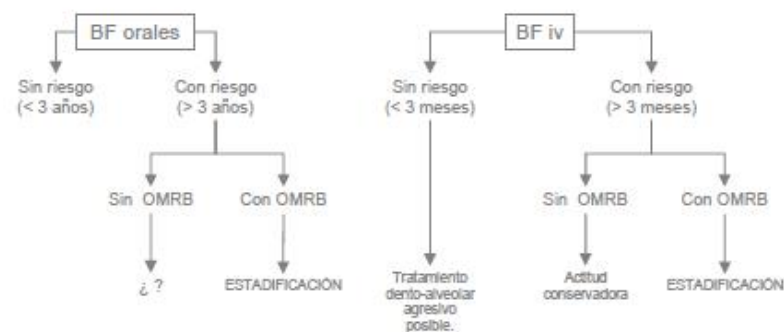


Figura 2

PROTOCOLO TERAPÉUTICO





Bibliografía

1. American Dental Association Council on Scientific Affairs. Expert panel recommendations: dental management of patients receiving oral bisphosphonate therapy. *J Am Dental Assoc* 2006; 137:1144-50.
2. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. Advisory Task Force on Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaws, American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007;65:369-76.
3. Bagán JV, Murillo J, Jiménez Y, Poveda R, Milian MA, Sanchos JM et al. Avascular jaw osteonecrosis in association with cancer chemotherapy: series of 10 cases. *J Oral Pathol Med* 2005;34:120-3.
4. Bagán JV, Jiménez Y, Murillo J, Hernández S, Poveda R, Sanchis JM, et al. Jaw osteonecrosis associated with bisphosphonates: multiple exposed areas and its relationship to teeth extractions. Study of 20 cases. *Oral Oncol* 2006; 42:327-9.
5. Barrientos FJ, Peral B, de la Peña G, Sánchez LA, García JM, Serrat A, et al. Osteonecrosis de los maxilares inducida por bisfosfonatos: prevención y actitud terapéutica. *Rev Esp Cir Oral y Maxilofac* 2007; 29:295-308.
6. Black DM, Delmas PD, Eastell R, Reid IR, Boonen S, Cauley JA, et al. Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 2007; 356:1809-22.
7. Boonyapakorn T, Schirmer I, Reichart PA, Sturm I, Massenkeil G. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: prospective study of 80 patients with multiple myeloma and other malignancies. *Oral Oncol* 2008 doi:10.1016/j.oraloncology.2007.11.012
8. Bilezikian JP. Osteonecrosis of the jaw--do bisphosphonates pose a risk? *N Engl J Med.* 2006;355:2278-81.
9. Dannemann C, Grätz KW, Zwahlen R. Clinical experiences with bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws. *Swiss Med Wkly* 2006;136:504-9.
10. Del Castillo JL, García JA, Arroyo S, Galdeano M, Calderón J. Osteonecrosis de los maxilares asociada al empleo de bifosfonatos. *Rev Esp Cir Oral Maxilofac* 2007; 29: 295-308.
11. Dello Russo NM, Jeffcoat MK, Marx RE, Fugazzotto P. Osteonecrosis in the jaws of patients who are using oral biphosphonates to treat osteoporosis. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2007;22:146-53.
12. Grant BT, Amenedo C, Freeman K, Kraut RA. Outcomes of placing dental implants in patients taking oral bisphosphonates: a review of 115 cases. *J Oral Maxillofac Sur.* 2008; 66:223-30.



13. Gutta R, Louis PJ. Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws: science and rationale. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007;104:186-93.
14. Hewitt C, Camile SF. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a comprehensive review. *J Oral Pathol Med* 2007; 36: 319-28.
15. Infante P, Cabezas A, Pérez JL, Palomino J, Gutiérrez JL. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2008 13:52-7.
16. Jiménez Y, Bagan JV. Los Bisfosfonatos, nueva causa de osteonecrosis maxilar por fármacos: Situación actual. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2005;10:88-91.
17. Kyle RA, Yee GC, Somerfield MR, Flynn PJ, Halabi S, Jagannath S, Orlowski RZ. et al. American Society of Clinical Oncology 2007. Clinical Practice Guideline Update on the role of Bisphosphonates in Multiple Myeloma. *J Clin Oncol* 2007;25: 2464-72.
18. Lam DK, Sándor GK, Holmes HI, Evans AW, Clokie CM. A review of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws and its management. *J Can Dent Assoc* 2007; 73:417-22.
19. Leite AF, Figueiredo PT, Melo NS et al. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. Report of a case and literature review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;102:14-21.
20. Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg* 2003;61:1115-7.
21. Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005;63:1567-75.
22. Marx RE, Joseph E, Cillo JE, Ulloa JJ. Oral Bisphosphonate-Induced Osteonecrosis: Risk Factors, Prediction of Risk Using Serum CTX Testing, Prevention, and Treatment. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007;65:2397-410.
23. Mavrokokki T, Cheng A, Brien S, Goss A. Nature and Frequency of Bisphosphonate-Associated Osteonecrosis of the Jaws in Australia. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007; 65:415-23.
24. Merigo E, Manfredi M, Meleti M et al. Bone necrosis of the jaws associated with bisphosphonate treatment: a report of twenty-nine cases *Acta Biomed.* 2006;77:109-17.
25. Pastor-Zuazaga D, Garatea-Crelgo J, Martino-Gorbea R, Etayo-Pérez A, Sebastián-López C. Osteonecrosis maxilar y bisfosfonatos. Presentación de tres nuevos casos. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006;11:57-60.
26. Ponte N, Estefanía R, Aguirre JM. Bisfosfonatos y Patología Oral I. Aspectos generales y preventivos. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006;11:396-400.
- 27.



28. Rogers MJ, Benford HL, Coxon FP, Luckman SP, Monkkonen J, Frith JC. Cellular and molecular mechanism of action of bisphosphonates. *Cancer* 2000; 88: 2961-78.
29. Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004;62:527-34.
30. Ruggiero SL, Woo SB. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Dent Clin North Am*. 2008;52:111-28.
31. Ruggiero SL, Fantasia J, Carlson E. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: background and guidelines for diagnosis, staging and management. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;102:433-41.
32. Sarin J, Derossi SS, Akintoye SO. Updates on bisphosphonates and potential pathobiology of bisphosphonate-induced jaw osteonecrosis. *Oral Dis* 2008;14:277-85.
33. Shenker NG, Jawad ASM. Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw. *Rheumatology* 2007; 46:1049-51.
34. Van den Wyngaert T, Huizing MT, Vermorken JB. Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw: cause and effect or a post hoc fallacy? *Annals of Oncology* 2006;17:1197-1204.
35. Wang HL, Weber D, McCauley LK. Effect of long-term oral bisphosphonates on implant wound healing: literature review and a case report. *J Periodontol* 2007; 78:373-6.
36. Woo SB, Hellstein JW, Kalmar JR. Systematic review: Bisphosphonates and Osteonecrosis of the Jaws. *Ann Intern Med* 2006; 144: 753-761.

Anexo 6. Vidal-Real C, Pérez-Sayáns M, Suárez-Peñaranda JM, Gándara-Rey JM, García-García A. Osteonecrosis of the jaws in 194 patients who have undergone intravenous bisphosphonate therapy in Spain. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2015 May. 1;20(3):e267-72. Factor de impacto (JCR 2014): 1.171.

Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2015 May 1;20 (3):e267-72.

Osteonecrosis of the jaws

Journal section: *Oral Medicine and Pathology*
Publication Types: *Research*

doi:10.4317/medoral.20092
<http://dx.doi.org/doi:10.4317/medoral.20092>

Osteonecrosis of the jaws in 194 patients who have undergone intravenous bisphosphonate therapy in Spain

Carmen Vidal-Real ¹, Mario Pérez-Sayáns ², José-Manuel Suárez-Peñaranda ³, José-Manuel Gándara-Rey ⁴, Abel García-García ⁵,

¹ DDS, Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology Unit. Faculty of Medicine and Dentistry

² PhD, DDS. Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology Unit. Faculty of Medicine and Dentistry. Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago (IDIS), Santiago de Compostela, Spain

³ MD, PhD. Department of Pathology and Forensic Sciences. University Hospital and School of Medicine of Santiago de Compostela

⁴ MD, PhD, DDS. Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology Unit. Faculty of Medicine and Dentistry

⁵ MD, PhD. Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology Unit. Faculty of Medicine and Dentistry. Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago (IDIS), Santiago de Compostela

Correspondence:

Entrevistas s/n
Santiago de Compostela
C.P. 15782 Spain
cvidalreal@gmail.com

Vidal-Real C, Pérez-Sayáns M, Suárez-Peñaranda JM, Gándara-Rey JM, García-García A. Osteonecrosis of the jaws in 194 patients who have undergone intravenous bisphosphonate therapy in Spain. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2015 May 1;20 (3):e267-72.
<http://www.medicinaoral.com/medoralfree01/v20i3/medoralv20i3p267.pdf>

Received: 15/04/2014
Accepted: 07/11/2014

Article Number: 20092 <http://www.medicinaoral.com/>
© Medicina Oral S. L. C.I.F. B 96689336 - pISSN 1698-4447 - eISSN: 1698-6946
eMail: medicina@medicinaoral.com
Indexed in:
Science Citation Index Expanded
Journal Citation Reports
Index Medicus, MEDLINE, PubMed
Scopus, Embase and Emtree
Indice Médico Español

Abstract

Background: Osteonecrosis of the jaw (ONJ) is a destructive bone process in patients undergoing bisphosphonate therapy and it is modulated by local and systemic factors. The purpose of this article is to determine the prevalence of ONJ in patients who have undergone intravenous bisphosphonate therapy, and relate the risk factors described to establish a protocol to reduce the risk of developing ONJ.

Material and Methods: We performed a retrospective study on 194 patients treated with IV bisphosphonates, analyzing clinical and pathological variables.

Results: The prevalence of ONJ was 12.9 %. The most remarkable complication was pain, which was reported by 80% of patients. The average age of the patients undergoing bisphosphonate therapy was 68.91 years. Most of non-diabetic patients did not develop ONJ (92.3%) ($p=0.048$). During bisphosphonate therapy, 3.1% of patients underwent extractions in the same percentage in the maxilla and in the mandible; all of which, except for one patient, developed ONJ ($p<0.001$). In regards to the periodontal state, 94.3% of patients without periodontal problems did not develop ONJ ($p=0.001$). Almost 50% of the necrosis were located unifocally on the mandible ($p<0.001$). The number of affected patients and the aggressiveness of the disease increased significantly three years after starting treatment ($p<0.001$).

Conclusions: Etiology still is a controversial issue and we should focus on known risk factors, such as the development of surgical procedures in patients undergoing bisphosphonate therapy, especially in patients who have already started their treatment, a group in which ONJ prevalence increases. Moreover, a bad periodontal state in

these patients is also an important risk factor, and the control of diabetes reduces it. Due to the above, all patients should be diagnosed and educated in oral hygiene prior to treatment, performing periodical maintenance, to detect possible traumatism and periodontal infection as soon as possible.

Key words: Osteonecrosis of the jaws, intravenous bisphosphonate therapy.

Introduction

The term osteonecrosis of the jaw (ONJ) was used for the first time in 2003 in a series of cases with 36 bone lesions of the mandible or maxilla in patients undergoing treatment with pamidronate or zoledronate. But it wasn't until 2007 that a definition and standardization of the process was established by the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (AAOMS). The Association describes it as a destructive bone process in patients undergoing bisphosphonate therapy who show bone exposure of over 8 weeks of evolution without former radiotherapy treatment (1,2).

The pathophysiology of bisphosphonate-related osteonecrosis is still under debate in international literature. Different theories have been described and an extensive list of mechanisms has been proposed. The two most studied hypotheses are the suppression of bone remodeling and angiogenesis (3). Although many studies and revisions mention the suppression of bone remodeling when referring to bisphosphonate-related osteonecrosis, there are currently changes in this hypothesis regarding three aspects. Firstly, osteonecrosis cases that are unrelated to the use of bisphosphonates have been described, in which other anti-remodeling agents have been used; secondly, bisphosphonate-related ONJ only occurs in the jaw and not in long bones or vertebrae; thirdly, IV administration of bisphosphonates increases the risk of osteonecrosis (4).

The risk factors that can contribute to the appearance of ONJ derive from the administration of bisphosphonates, systemic factors and local factors (5,6). The most relevant systemic factor is the presence of a malignant process, which is usually breast cancer, multiple myeloma or prostate cancer. Other influencing factors are diabetes, osteoporosis (in oncology patients) and medication related to steroids, immunosuppressive and antiangiogenic drugs (5).

Lastly, local factors are also related to the appearance of ONJ, such as oral hygiene and overall periodontal state. In most cases of bone necrosis, it appears after dental extractions, implant placement or lesions in the mucosa (7). The literature links dental extractions at the beginning of ONJ as one of the most common factors in bone necrosis in patients undergoing bisphosphonate therapy (approximately 86%) (8).

The purpose of this article is to determine the prevalence of ONJ in patients who have undergone intrave-

nous bisphosphonate therapy, and relate the risk factors described to establish a protocol to reduce the risk of developing ONJ.

Material and Methods

We performed a retrospective study on 194 patients, of which 139 (71.6%) were men and 55 (28.4%) were women, with an average age of 68.91, a standard deviation of 11.69 and a range between 42 and 93 years. All of the patients visited the Master of Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology of the Faculty of Medicine and Dentistry of Santiago de Compostela. The patients were derived from the Oncology Unit of the Complejo Hospitalario Universitario of Santiago de Compostela (CHUS), for a dental examination prior to IV bisphosphonate therapy. All the patients who were submitted to IV bisphosphonates over a period of 7 years (2006-2013) were included in this study. This study has been approved by the Regional Ethics Committee Investigation of Galicia (2014/304) and all patients have received the consent informed.

All patients were treated with zoledronic acid. The main exclusion criteria was a history of treatment with radiotherapy. We performed a complete medical history, dental and mucosa examination. As part of the protocol, we collected data on the patients regarding treatment, dental status and evolution.

We analyzed the oral status of the patient at the time by performing a complete odontograph, assessing the periodontal state, the use of removable prosthesis and the presence of torus or dental and bone plaques through additional tests, mainly orthopantomography.

The variables we collected included: hypertension, diabetes, treatment with cortisone and chemotherapy, presence or not of osteonecrosis, tooth extractions or other procedures before, during or after starting bisphosphonate therapy, presence of infection or teeth with unfavorable prognosis, general periodontal state and the use of removable prosthesis. The patients with established osteonecrosis, we classified by degree of affection, following the guidelines of Bagán *et al.* (9).

Statistical analysis

The collected data was analyzed with the SPSS statistical system, version 20.0 for Windows. The discontinuous quantitative or discrete variables were analyzed through descriptive statistics, expressing the results in

mean, deviation and standard. The frequency tables and percentages were used for qualitative variables.

For the study of the association of variables we employed the Chi Square test, the T-Student test or the Anova Factor test, depending on the application conditions. Values in which $p \leq 0.05$ were considered statistically significant.

Results

Clinical and pathological characteristics of the sample and association analysis, are represented in table 1. Of the 25 patients (12.9%) who suffered ONJ, 8% had degree 0, 24% degree I, 72% degree II and 8% degree III. Hardly any differences were appreciated between genders, except for the fact that the 2 degree III patients were women. We can see on figure 1, some examples of the different degrees of ONJ.

The complications appearing in patients undergoing bisphosphonate therapy were only observed in the patients that developed ONJ; except for one patient who had a temporary paresthesia of the mental region of the 4th quadrant. The most remarkable complication was

pain, which was reported by 80% of patients, followed by bone spicules (24%), abscesses (24%) and, in a lower degree, oroantral communication (4%) and extraoral fistula (4%).

The average age of the patients undergoing bisphosphonate therapy was 68.91 years (range 25 to 101 years), which is very similar to the age of ONJ patients (68.97 years), standard deviation 11.96, and a range between 42 and 93 years. There were no statistically significant differences ($F=0.032$, $p=0.858$). The gender of the patients did not show any statistical significant differences. Of the total study population of patients undergoing IV bisphosphonate therapy, 14 men (7.2%) and 11 women (5.7%) developed ONJ.

The reason for IV bisphosphonate therapy was prostate cancer in men (55.2%) and breast cancer in women (22.2%) followed by myeloma (9.3%) and lung cancer (7.7%), showing no differences between genders. All the patients were treated with zoledronic acid (Zometa®) at a 4mg dose and mostly in a monthly interval, except for one patient who received it quarterly.

In regards to systemic risk factors, most patients

Table 1. Clinical and pathological characteristics of the sample and association analysis.

Characteristics	Total patients with ONJ (%)	Total patients without ONJ (%)	p
Gender			
Men	14 (7.2)	125 (64.4)	0.063
Women	11 (5.7)	44 (22.7)	
Systemic Risk Factor			
Cancer	12 (6.2)	95 (49)	0.214
Prostate	9 (4.6)	34 (17.5)	
Breast	4 (2)	11 (5.7)	
Myeloma	0 (0)	18 (9.3)	
Lung	0 (0)	2 (1)	
Bladder	0 (0)	5 (2.6)	
Colon	0 (0)	3 (1.5)	
Kidney	18 (9.3)	176 (90.7)	0.048
Diabetes	168 (86.6)	26 (13.4)	
Polymedicated	94 (48.5)	100 (51.5)	0.139
HTA	42 (21.6)	152 (78.4)	0.704
Cortisone	65 (33.5)	129 (66.5)	0.234
QTP	11 (5.7)	54 (27.8)	0.462
Local Risk Factor			
Extraction before	8 (4.1)	86 (44.3)	0.078
Extraction during	5 (2.6)	1 (0.5%)	<0.001
Extraction after	4 (2)	7 (3.6)	0.017
Prosthesis	5 (2.6)	33 (17)	0.936
periodontal state	19 (9.8)	70 (36)	0.001
Toxic factors			0.998
Tobacco	2 (1)	13 (6.7)	
Alcohol	3 (1.5)	19 (9.8)	
Location			
Unifocal mandible	13 (6.7)	-	< 0.001
Unifocal maxilla	5 (2.6)	-	
Multifocal mandible	3 (1.5)	-	
Maxilla and mandible	4 (2)	-	



Fig. 1. Different degrees of ONJ. A) Degree I. B and C) Degree II. D) Degree III.

(86.6%) who developed ONJ were polymedicated, regardless of the consumption of drugs. The percentage of patients with hypertension (48.5%) as those treated with chemotherapy drugs (33.5%) and cortisone (21.6%) did not show any statistically significant differences. However, most of non-diabetic patients did not develop ONJ (92.3%) ($\chi^2=3.319$, $p=0.048$).

In regards to dental extractions, 57.2% of the patients undergoing bisphosphonate therapy required dental extractions. 49% of the patients underwent tooth extractions before treatment, 13.4% of the upper jaw, 14.9% in the mandible and 20.6% in both jaws. During bisphosphonate therapy, 3.1% of patients underwent extractions in the same percentage in the maxilla and in the mandible; all of which, except for one patient, developed ONJ ($\chi^2=27.371$, $p<0.001$). Once bisphosphonate therapy had ended, tooth extractions were performed in 5.7% of patients, the remaining 88.5% that did not undergo tooth extractions did not develop ONJ ($\chi^2=5.725$, $p=0.017$). We must highlight that 17 of 25 patients that developed ONJ did not undergo tooth extractions, although the differences are not statistically significant.

As for local risk factors, of 38 patients with removable prosthesis, most of them (86.85%) did not suffer from ONJ and there were no statistically significant differences; while, in regards to the periodontal state (pocket of >5 mm and class II and III mobilities), 94.3% of patients without periodontal problems did not develop

ONJ ($\chi^2=10.488$, $p=0.001$). Furthermore, most of the degree II ONJ patients (82.3%) and all of the degree III patients did have related periodontal problems.

As for related toxic factors, of the patients treated with bisphosphonates 7.7% were smokers, 11.3% had drinking habits and 75.8% combined both factors. 76% of ONJ patients were not smokers nor drinkers, although there were no statistically significant differences.

The most affected areas by osteonecrosis were the lower jaw, followed by the upper jaw, and in a lower percentage (16%) both jaws. Almost 50% of the necrosis were located unifocally on the mandible, compared with the unifocal necrosis of the maxilla, which only accounted for 20% ($\chi^2=187.319$, $p<0.001$).

In regards to the period lapsing from the beginning of the bisphosphonate therapy to the appearance of the lesions, exposed bone areas started appearing after one year. The number of affected patients and the aggressiveness of the disease increased significantly three years after starting treatment. 24% of patients suffered from bone exposure during the first year of treatment, 32% at 2-3 years and 44% from 3 years onwards ($\chi^2=184.870$, $p<0.001$).

Discussion

IV bisphosphonates are commonly used drugs for the treatment of patients with bone metastasis to avoid pathological fractures and reduce pain. In regards to the

type of bisphosphonate, it is important to distinguish the type, if it is nitrogenated or not, and the dose, duration and frequency of the treatment (cumulative doses) (5). The most relevant adverse effect described is osteonecrosis of the jaw, with a very variable prevalence according to the literature. It ranges between 0.7-12% (5,10,11), depending on the reviewed author, a similar figure as the one we obtained in our study (12.9%). Most ONJ processes are related to patients with prolonged treatments with nitrogenated IV bisphosphonates (5,6); furthermore, in regards to age and gender, we have observed a greater predisposition in advanced ages and women, since malignant diseases and osteoporosis appearing at the same time as breast cancer are more frequent in this type of patients (6).

All our patients received zoledronate (Zometa®), the bisphosphonate most frequently related to the appearance of ONJ, surely because it is the most powerful and extensively used third generation bisphosphonate (12-14). Bisphosphonates are mainly indicated for oncology patients; in our case the most prevalent cancer was prostate cancer in men (52.2%), breast cancer in women (30.4%) followed by multiple myeloma (17.4%), which showed no differences between genders. Our data differs from the reviewed literature (15-17) since the oncologist deriving most patients to our service is specialized in prostate cancer.

In regards to the doses, few studies include the exact doses of the patients, as well as the periods between doses. In our case, 91.3% of the patients received monthly doses of zoledronate, compared to 8.7% that received the doses quarterly. However, the literature concludes that higher doses of the drug increases the risk of developing ONJ (18,19). In regards to the period lapsing from the appearance of ONJ, once the bisphosphonate therapy has started, 24% of patients suffered from bone exposure during the first year of treatment, 32% at 2-3 years, and 44% from 3 years onwards. According to the study published by Bamias, the risk of suffering from ONJ in patients with IV bisphosphonate therapy increases from 39 months onwards, which coincides with the data collected in our study.

Other risk factors are also included, such as treatment with cortisone, obesity, smoking, diabetes or treatment with chemotherapy (13); in our study we did not find any statistically significant differences regarding these variables.

Tooth extractions were described as a precursory factor in 86% of the cases in which osteonecrosis appeared in patients treated with bisphosphonate therapy (10,20). Dental extractions before and after bisphosphonate therapy did not show statistical significance. However, 5 out of 6 patients who underwent extractions during the treatment with bisphosphonates developed ONJ.

We performed a conservative treatment with analgesics and antibiotics in the case of suppuration, in addition to a curettage and regularization of the areas with bone spicules. In those cases showing small areas of bone exposure (stage I) we proposed the use of a soft laser to vaporize the necrotic bone to reach the bleeding healthy bone. This minimally invasive technique allows us to create microperforations on the base of the bone and thus stimulate new vascularization. It also provides additional advantages such as its bactericide and biostimulation effect, while showing a better post-surgical recovery. We thus try to heal initial stages by trying to achieve a complete closure of the exposed bone (21,22). In the most advanced cases (degree II), we conducted a microbiota study to best establish the antibiotic treatment, although the period of treatment is not currently standardized (23,24). In the cases of degree III, surgical treatment was performed with bone resection and, in some cases, reconstruction of the area with a microvascularized flap. In all of the cases, we insisted on correct oral hygiene and the use of antiseptic mouthwash (chlorhexidine at 0.12%). Our entire protocol is in agreement with the proposals of other authors of the reviewed literature (23,25).

Despite the treatment protocol proposed by several authors, most of them agree that the most important factor is prevention to avoid the appearance of osteonecrosis of the jaw (26). Several publications show that prevention reduces the risk of ONJ in patients undergoing IV bisphosphonate therapy (7,14,27). For this prevention, it is essential to conduct an extensive oral, dental and radiographical assessment to detect bone or dental pathologies and treat them early on. Prevention by means of prior extraction of teeth with bad prognosis seems to be the appropriate measure. Of 94 patients in whom we developed this measure, 86 (91.5%) did not develop ONJ.

Conclusions

Etiology still is a controversial issue in regards to the appearance of ONJ and we should focus on known risk factors, such as the development of surgical procedures in patients undergoing bisphosphonate therapy, especially in patients who have already started their treatment, a group in which ONJ prevalence increases. Moreover, a bad periodontal state in these patients is also an important risk factor in the development of ONJ, and the control of diabetes reduces it. Due to the above, all patients should be diagnosed and educated in oral hygiene prior to treatment, performing periodical maintenance, paying special attention to the lower jaw, to detect possible traumatism and periodontal infection as soon as possible, which could eventually compromise healing and induce osteonecrosis later on.

References

1. American Dental Association Council on Scientific Affairs. Dental management of patients receiving oral bisphosphonate therapy: expert panel recommendations. *J Am Dent Assoc.* 2006;137:1144-50.
2. Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg.* 2003;61:1115-7.
3. Allen MR, Burr DB. The pathogenesis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: so many hypotheses, so few data. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67:61-70.
4. Yin G, Bai Y, Luo E. Angiogenic suppression of osteoclasts may play a role in developing bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Med Hypotheses.* 2011;76:347-9.
5. Otto S, Schreyer C, Hafner S, Mast G, Ehrenfeld M, Sturzenbaum S, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws - characteristics, risk factors, clinical features, localization and impact on oncological treatment. *J Craniomaxillofac Surg.* 2012;40:303-9.
6. Hoff AO, Toth B, Hu M, Hortobagyi GN, Gagel RF. Epidemiology and risk factors for osteonecrosis of the jaw in cancer patients. *Ann NY Acad Sci.* 2011;1218:47-54.
7. Dimopoulos MA, Kastritis E, Bamia C, Melakopoulos I, Gika D, Roussou M, et al. Reduction of osteonecrosis of the jaw (ONJ) after implementation of preventive measures in patients with multiple myeloma treated with zoledronic acid. *Ann Oncol.* 2009;20:117-20.
8. Yamazaki T, Yamori M, Ishizaki T, Asai K, Goto K, Takahashi K, et al. Increased incidence of osteonecrosis of the jaw after tooth extraction in patients treated with bisphosphonates: a cohort study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2012;41:1397-403.
9. Bagan JV, Jimenez Y, Diaz JM, Murillo J, Sanchis JM, Poveda R, et al. Osteonecrosis of the jaws in intravenous bisphosphonate use: Proposal for a modification of the clinical classification. *Oral Oncol.* 2009;45:645-6.
10. Khosla S, Burr D, Cauley J, Dempster DW, Ebeling PR, Felsenberg D, et al. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res.* 2007;22:1479-91.
11. King AE, Umland EM. Osteonecrosis of the jaw in patients receiving intravenous oral bisphosphonates. *Pharmacotherapy.* 2008;28:667-77.
12. McLeod NM, Brennan PA, Ruggiero SL. Bisphosphonate osteonecrosis of the jaw: a historical and contemporary review. *Surgeon.* 2012;10:36-42.
13. Bagan J, Scully C, Sabater V, Jimenez Y. Osteonecrosis of the jaws in patients treated with intravenous bisphosphonates (BRONJ): A concise update. *Oral Oncol.* 2009;45:551-4.
14. Vandone AM, Donadio M, Mozzati M, Ardine M, Polimeni MA, Beatrice S, et al. Impact of dental care in the prevention of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a single-center clinical experience. *Ann Oncol.* 2012;23:193-200.
15. Vahtsevanos K, Kyrgidis A, Verrou E, Katodritou E, Triaridis S, Andreadis CG, et al. Longitudinal cohort study of risk factors in cancer patients of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Clin Oncol.* 2009;27:5356-62.
16. Bocanegra-Perez MS, Vicente-Barrero M, Sosa-Henriquez M, Rodriguez-Bocanegra E, Liminana-Canal JM, Lopez-Marquez A, et al. Bone metabolism and clinical study of 44 patients with bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2012;17:e948-55.
17. Mozzati M, Martinasso G, Maggiora M, Scoletta M, Zambelli M, Carossa S, et al. Oral mucosa produces cytokines and factors influencing osteoclast activity and endothelial cell proliferation, in patients with osteonecrosis of jaw after treatment with zoledronic acid. *Clin Oral Invest.* 2013;17:1259-66.
18. Bonacina R, Mariani U, Villa F, Villa A. Preventive strategies and clinical implications for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a review of 282 patients. *J Can Dent Assoc.* 2011;77:147.
19. Jimenez-Soriano Y, Bagan JV. Bisphosphonates, as a new cause of drug-induced jaw osteonecrosis: an update. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2005;10 Suppl 2:E88-91.
20. Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004;62:527-34.
21. Rugani P, Acham S, Truschegg A, Obermayer-Pietsch B, Jakse N. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws: surgical treatment with ErCr:YSGG-laser. Case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;110:e1-e6.
22. Vescovi P, Manfredi M, Merigo E, Meleti M, Fornaini C, Rocca J, et al. Surgical approach with Er: YAG laser on osteonecrosis of the jaws (ONJ) in patients under bisphosphonate therapy (BPT). *Lasers Med Sci.* 2010;25:101-13.
23. Fournier P, Boissier S, Filleul S, Guglielmi J, Cabon F, Colombel M, et al. Bisphosphonates inhibit angiogenesis in vitro and testosterone-stimulated vascular regrowth in the ventral prostate in castrated rats. *Cancer Res.* 2002;62:6538-44.
24. Perez SB, Barrero MV, Hernandez MS, Knezevic M, Navarro JM, Millares JR. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw. A proposal for conservative treatment. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2008;13:E770-3.
25. Ruggiero SL, Dodson TB, Assael LA, Landesberg R, Marx RE, Mehrotra B. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw - 2009 update. *Aust Endod J.* 2009;35:119-30.
26. Bagan J, Blade J, Cozar JM, Constela M, Garcia Sanz R, Gomez-Veiga F, et al. Recommendations for the prevention, diagnosis, and treatment of osteonecrosis of the jaw (ONJ) in cancer patients treated with bisphosphonates. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2007;12:E336-40.
27. Ripamonti CI, Maniezzo M, Campa T, Fagnoni E, Brunelli C, Saibene G, et al. Decreased occurrence of osteonecrosis of the jaw after implementation of dental preventive measures in solid tumor patients with bone metastases treated with bisphosphonates. The experience of the National Cancer Institute of Milan. *Ann Oncol.* 2009;20:137-45.

Anexo 7. Carmen Vidal Real, Mario Pérez Sayáns, José M Suárez Peñaranda, Fernanda Pardo Sanchez, Pilar Gándara Vila, Andrés Blanco Carrión, Abel García García. Role of microbiota and inflammation in osteonecrosis of the jaw. *Int J Clin Exp Pathol* 2016;9(3). Factor de impacto (JCR 2015): 1.581

Int J Clin Exp Pathol 2016;9(4):4188-4196
www.ijcep.com /ISSN:1936-2625/UCEP0021654

Original Article

Role of microbiota and inflammation in osteonecrosis of the jaw

Carmen Vidal Real¹, Mario Pérez Sayáns², José M Suárez Peñaranda³, Fernanda Pardo Sanchez⁴, Pilar Gándara Vila¹, Andrés Blanco Carrión¹, Alberto Rodríguez Archilla⁵, Abel García García²

¹Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology Unit, Faculty of Medicine and Dentistry, Enterríos s/n, Santiago de Compostela C.P. 15782 Spain; ²Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology Unit, Faculty of Medicine and Dentistry, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago (IDIS), Santiago de Compostela, Spain, Enterríos s/n, Santiago de Compostela C.P. 15782 Spain; Departments of ³Pathology and Forensic Sciences, ⁴Microbiology, University Hospital and School of Medicine of Santiago de Compostela, Enterríos s/n, Santiago de Compostela C.P. 15782 Spain; ⁵Faculty of Dentistry, University of Granada, Colegio Maximo s/n, Campus Universitario de Cartuja, E-18071 Granada, Spain

Received December 11, 2015; Accepted February 18, 2016; Epub April 1, 2016; Published April 15, 2016

Abstract: Background: Describe the presence of *Actinomyces* in bone biopsies and exudates from patients with ONJ and to determine the degree of inflammation caused by it, evaluating its relationship with clinical/pathological parameters and prognosis as regards evolution of the patient according to the antibiogram for the sample. Material and methods: 28 patients with ONJ were reviewed retrospectively. Wound exudate was submitted to microbiology analyses and antibiogram. Bone sequestra biopsies were analyzed histopathologically to visualize the *Actinomyces* colonies. Results: 87.5% of biopsies showed the presence of *Actinomyces*. The inflammatory response was very variable, ranging from absent to intense but it increases with age ($P=0.005$). Aerobic bacteria were found almost exclusively in patients with grade I and II ONJ (85%). In contrast, anaerobic bacteria were present in 56% of patients for all three grades of ONJ. The combination of amoxicillin with clavulanic acid showed good sensitivity in the majority of patients (82.6%). Conclusions: The degree of inflammation does not appear to be correlated to the density of *Actinomyces* colonies observed histologically. Elderly patients had greater inflammation and worse response to treatment. The combination of amoxicillin with clavulanic acid gave the best results. It is essential to prioritize both prevention and assessing the risk factors.

Keywords: Osteonecrosis of the jaw, bisphosphonate, radiotherapy, actinomyces, inflammation

Introduction

Osteonecrosis of the jaw (ONJ) is one of the worst complications for patients under bisphosphonate treatments or head and neck radiotherapy. Its etiopathogenesis is unclear, but the presence of microflora in the oral cavity may be one of the factors responsible for initiating or promoting the osteonecrosis of the jaw (ONJ). Indeed, both biopsies and bone sequestra have shown the presence of bacteria such as *Fusobacterium*, *Eikenella*, *Bacillus*, *Actinomyces*, *Staphylococcus* and *Streptococcus* [1].

The role of *Actinomyces* has been recently debated, both in terms of when it begins and the progression of the pathology. *Actinomyces* are Gram-positive, non-spore forming and non-acid/alcohol fast bacilli with a tendency to form

filaments. Some species are strictly anaerobic whereas others are facultatively anaerobic. Numerous *Actinomyces* are opportunistic pathogens of the oral cavity and have been found in periodontal pockets, lesions caused by caries and on the surface of the oral mucosa [1].

Although *Actinomyces* does not cause disease in the presence of intact mucosa, when mucosal integrity is lost as a result of trauma, surgery or infection, and it reaches the jaw bone it can behave as a pathogen and initiate a chronic inflammatory process that leads to tissue destruction and osteolysis [2, 3].

Oral/cervicofacial actinomycosis is the most common, accounting for up to 55% of cases in several series, with *Actinomyces israelii* being the most common pathogenic agent [4]. It can

Microbiota and inflammation in ONJ

appear as acute forms, with suppuration of the soft tissue, or as chronic forms in which indurated inflammation with multiple fistulas or twisting trajectories are observed. The latter usually require antibiotic treatment over several months and prognosis is uncertain [4-6].

The presence of *Actinomyces* is related to bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw and osteomyelitis, although it remains unclear whether it represents a key factor in the pathogenesis of these diseases [7, 8]. The aim of this study is to describe the presence of *Actinomyces* in bone biopsies and exudates from patients with ONJ and to determine the degree of inflammation caused by it, evaluating its relationship with clinical/pathological parameters and prognosis as regards evolution of the patient according to the antibiogram for the sample.

Materials and methods

The medical records for 28 adult patients (16 males and 12 females) with a mean age of 71.96 years attended by the Oncology Department at the Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (C.H.U.S.) were reviewed retrospectively. All patients were referred to the specialized Oral Surgery and Implantology Unit at the School of Medicine and Dentistry in Santiago de Compostela for dental assessment prior to treatment and follow-up of possible complications resulting from such treatment. This is a retrospective study and is exempt of IRB approval.

Patients with osteonecrosis of the jaws who had undergone oral or intravenous bisphosphonate treatments were included, as well as those subject to head and neck radiotherapy over an eight-year period (2006-2014). The diagnostic criteria of the ONJ in patients undergoing bisphosphonate therapy was described by The American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (AAOMS) [9]; while in the case of head and neck radiotherapy patients, only those who had bone exposure of over eight weeks of evolution were considered [10].

The variables collected included underlying disease, clinical findings, type and duration of bisphosphonate therapy, histological and radiological findings, bacteriological cultures and treatment. Osteonecrosis was classified on the basis of the degree of involvement according to

Bagán [11] et al. Grade I: Asymptomatic, with exposed bone or intraoral fistula; grade II: Symptomatic, with exposed bone or intraoral fistula; grade III: Fracture, infection, dental involvement, osteolysis with involvement of the lower edge of the jaw or communication with the maxillary sinus.

Wound exudate samples from the region of exposed bone were submitted for Gram staining and cultured in liquid medium (thioglycolate broth) and solid media (blood agar and chocolate agar for aerobic bacterial growth, Sabouraud agar for yeast growth and Schaedler agar for anaerobic bacterial growth). Cultured plates were incubated for 48 hours at 37°C under a CO₂ atmosphere and for 72 hours in anaerobiosis chambers. Microorganisms were identified using the Vitek 2 (Bio-Merieux, Marcy l'Etoile, France) and Microscam systems (Siemens, Erlangen, Germany) in the case of aerobes and API-ANA (Biomerieux) in the case of anaerobes. The antimicrobial susceptibility tests were performed using the e-test method (AB biodisk) and followed the interpretation criteria of the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).

Bone sequestra biopsies were fixed in 10% buffered formalin and embedded in paraffin according to standard procedures. For evaluation, they were stained with hematoxylin/eosin, PAS and methenamine silver to visualize the *Actinomyces* colonies. The presence of these colonies was evaluated semi-quantitatively as scarce (only isolated colonies), very abundant (present in every high power field) and moderately abundant (for cases that do not fulfill the previous requirements). In addition, the presence of acute inflammation, estimated by the amount of polymorphonuclear neutrophils (PMN) present in the specimen, was also quantified into three categories (mild when only a few PMNs were present, moderate, when they were present in small groups, and intense, when they were seen in every microscopic field in the histopathological study). Finally, chronic inflammation (indicated by the presence of lymphocytes and/or plasma cells) was also recorded.

All data obtained were analyzed using SPSS version 20.0 for Windows. The discontinuous or discrete quantitative variables were analyzed using descriptive statistics, with the results being expressed as mean, standard deviation, and as frequency tables and percentages for

Microbiota and inflammation in ONJ

Table 1. Relationship between the quantity of Actinomyces and the inflammatory response

Grade	Actinomyces				Inflammation				
	Null	Mild	Moderate	Abundant	Null	Scarce	Moderate	Abundant	Chronic
I	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (8.3%)	2 (8.3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
II	0 (0%)	2 (8.3%)	8 (33.3%)	7 (29.1%)	8 (33.3%)	1 (4.1%)	4 (16.6%)	2 (8.3%)	1 (4.1%)
III	1 (4.2%)	1 (4.2%)	3 (12.5%)	0 (0%)	3 (12.5%)	1 (4.1%)	1 (4.2%)	0 (0%)	1 (4.1%)
Total	1 (4.2%)	3 (12.5%)	11 (45.8%)	9 (37.5%)	13 (54.2%)	2 (8.3%)	5 (20.8%)	2 (8.3%)	2 (8.3%)

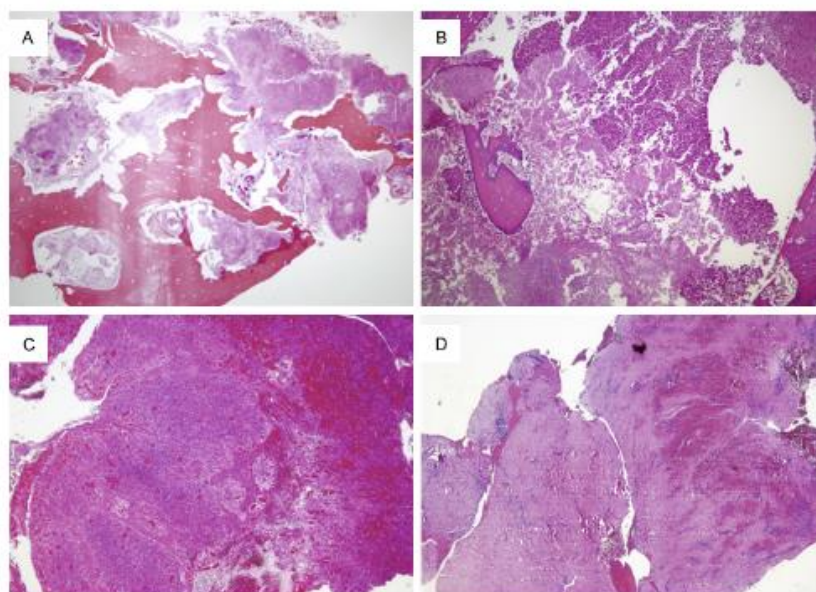


Figure 1. Histopathological examination revealed different combinations of Actinomyces and inflammatory response. Some cases demonstrated abundant Actinomyces colonies but lacked any inflammatory infiltration (A), while in other examples; this microorganism was identified along with a dense infiltrate of PMNs (B). PMNs were also seen in some cases in absence of Actinomyces (C). Finally in some patients the only change consisted in fibrosis and scant inflammatory response composed mainly of lymphocytes (D).

qualitative variables. The chi-squared test, Student's t-test, or a one-way ANOVA were used during intervariable relationship studies, depending on the application conditions. *P* Values ≤ 0.05 were considered to be statistically significant.

Results

Clinical findings

Of the 28 patients, 16 were men (57.1%) and 12 were women (42.8%), with an average age of 71.96 years (SD 8.94). According to the reg-

istered systemic risk, 8 patients (28.5%) were diabetic, 15 (53.6%) were undergoing chemotherapy, four (14.3%) were smokers, 14 (50%) were hypertensive and nine (32.1%) were taking corticosteroids. The reason for bisphosphonate treatment was oral cancer (14.3%), breast cancer (25%), prostate cancer (39.2%), multiple myeloma (10.7%) and osteoporosis (10.7%).

The region of the oral cavity most affected by osteonecrosis was the lower jaw (67.8%), followed by the upper jaw (21.4%) and both jaws (10.7%).

Microbiota and inflammation in ONJ

Table 2. Relationship between grade of ONJ and quantity of Actinomyces and the type and degree of inflammation

Actinomyces	Inflammation				
	Null	Mild	Moderate	Abundant	Chronic
Null	0	0	1	0	0
Scarce	1	0	1	0	1
Moderate	8	1	1	0	1
Abundant	4	1	2	2	0

Table 3. Relationship between the types of bacterium isolated and grade of ONJ

	Grade I	Grade II	Grade III	P value
Staphylococcus sp	0	1	1	0.372
Capnocytophaga sp	2	1	0	0.008
Morganella morganii	0	1	0	0.817
Enterobacter cloacae	0	1	2	0.037
Streptococcus sp	3	12	1	0.112
Eikenella corrodens	0	3	1	0.664
Neisseria sp	3	3	0	0.004
Proteus sp	0	1	0	0.074
Actinomyces sp	2	3	0	0.003
Veillonella parvula	0	0	2	0.817
Peptostreptococcus sp	0	3	0	0.515
Fusobacterium sp	0	1	1	0.372
Prevotella sp	0	4	1	0.648
Bacteroides sp	0	2	0	0.655

The degree of the lesions was variable, depending on the type of treatment administered. Patients receiving intravenous bisphosphonate treatment presented all grades of ONJ, whereas those receiving oral bisphosphonates only presented grade II. Patients treated with radiotherapy exhibited more severe grade II (5%) and grade III (75%) lesions.

Histological findings

Histopathological study was performed in 24 of the 28 patients. Of these, 21 (87.5%) showed the presence of Actinomyces. The pathogen count was very abundant in grades I and II, whereas patients in grade III presented lower quantities of Actinomyces (Table 1).

Presence of Actinomyces was not associated with any sign of inflammation in 13 patients (54.2%) but it was found that the inflammatory response triggered by the presence of Acti-

nomyces was very variable, ranging from absent to intense (Figure 1A and 1B; Table 1).

Acute inflammation was present in 37.5% of patients and was quantified as mild (2 patients), moderate (5 patients) and abundant (2 patients), with the latter two being present in patients with grade II osteonecrosis only. In the remaining cases the intensity of inflammation was found to increase with age, with the mean age for absence of inflammation (65.31; SD: 7.91) being lower than that for abundant inflammation (81.00; SD: 2.83) (Figure 1B and 1C). These differences were statistically significant ($F=5.270$, $P=0.005$). Finally, there were only two cases of chronic inflammation, one in a patient with grade II ONJ and the other in a patient with grade III ONJ (Table 2).

Microbiological findings

All bacteria isolated in cultures were recorded (Table 3). Aerobic bacteria were found almost exclusively in patients with grade I and II ONJ (85%), with this value being statistically significant. In contrast, anaerobic bacteria were present in 56% of patients for all three grades of ONJ. Although all cases with grade III ONJ presented anaerobic bacteria, this finding was not statistically significant.

Except for *Streptococcus* sp., which was highly abundant in grade II ONJ, the families of bacterial species specific to the different grades of osteonecrosis did not differ significantly. Only three bacteria exhibited statistically significant differences as regards the grades of ONJ (Table 3; Figure 2).

Antibiograms were also performed for each species detected in order to guide the subsequent antibiotic treatment for these patients. The six antibiotics most commonly used in standard practice were studied and a variable bacterial behavior was observed between ONJ patients.

Penicillin G did not exhibit complete sensitivity in any patient as regards all the bacteria isolated in the cultures. Indeed, this antibiotic exhibited a marked inter-patient variability in terms of response (Figure 3).

The combination of amoxicillin with clavulanic acid showed good sensitivity in the majority of

Microbiota and inflammation in ONJ

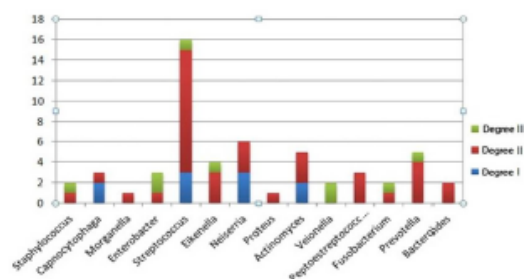


Figure 2. Families of bacterial species specific to the different grades of osteonecrosis.

patients (82.6%), although this finding was not statistically significant (Figure 4).

Clindamycin was effective in 40% of patients and resistant in 14.5%, with 28% of patient showing a variable response to this antibiotic. Azithromycin was effective in very few patients (38%) and, moreover, the response was highly variable, with complete sensitivity against the bacteria isolated not being demonstrated (Figure 5).

Levofloxacin was effective in 42.8% of patients, the majority of whom showed a good sensitivity (88.8%). Finally, another antibiotic that tends to be used much less in daily practice, namely gentamicin, showed good sensitivity despite being effective in only a few patients (38%).

Discussion

Osteonecrosis of the jaw is currently one of the most important complications in patients receiving bisphosphonate treatment or radiotherapy of the head and neck. However, despite the extensive literature on this subject, there is still no agreement regarding its etiology and treatment. Of the different risk factors described, the presence of microflora in the oral cavity has been recently considered as a potential trigger or stimulating factor in the progress of ONJ. Nevertheless, this view is strongly questioned by other authors. Biopsies and cultures of ONJ lesions have demonstrated the presence of different bacterial species such as *Fusobacterium*, *Eikenella*, *Bacillus*, *Actinomyces*, *Staphylococcus* and *Streptococcus* [12-15]. Although some of these bacteria were con-

centage of patients with *Actinomyces* was intermediate between the values reported by Anavi-Lev et al. [18], who found 100% of patients with *Actinomyces*, and the 86% reported by Schipmann et al. [17]. In contrast, the degree of inflammation does not appear to be correlated to the density of *Actinomyces* colonies observed histologically, and in some cases their presence does not trigger any type of appreciable inflammatory response. This suggests that *Actinomyces* is simply one amongst considered to be biofilm colonisers rather than invasive pathogens, no study has yet confirmed the importance of oral microflora in the context of ONJ.

Only one study has evaluated the importance of bacterial flora in the beginning and development of ONJ. Mawardi et al. showed that mice infected with *Fusobacterium* after tooth extraction exhibited a higher incidence of bone exposure and infection and, moreover, were more resistant to antibiotherapy [16].

Numerous aerobic and anaerobic microorganisms were isolated from the microbiological cultures of bone exposures taken from our patients. In this respect, it is important to highlight the fact that we found significant differences as regards the type of bacteria present in ONJ samples depending on the grade of lesion. Thus, aerobic bacteria were more abundant in milder (grade I and II) lesions, whereas anaerobic bacteria were isolated in the more advanced cases. This could explain the more difficult recovery of patients with grade III ONJ when following the same therapeutic regimen as in the initial stages. Nevertheless, when genera are taken into account, only three families of bacteria were found to be specific within the different grades of ONJ. Thus, *Capnocytophaga* sp, *Neisseria* sp and *Actinomyces* sp exhibited significant differences related to the degree of involvement of ONJ (Table 3).

In our series, 87.5% of patients with a bone sequestrum biopsy had a histological finding of *Actinomyces* in the bone, a figure coincidental with of previous reports [17, 18]. Thus, the per-

Microbiota and inflammation in ONU

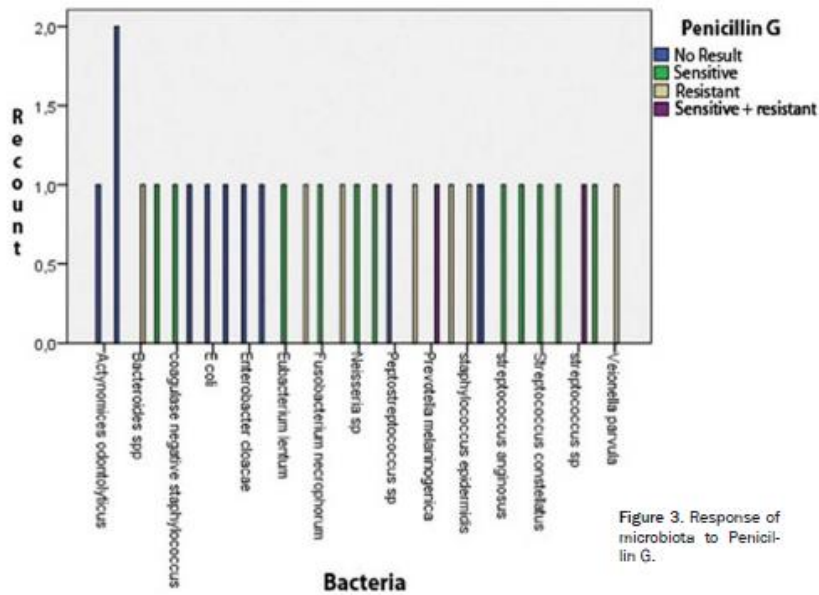


Figure 3. Response of microbiota to Penicillin G.

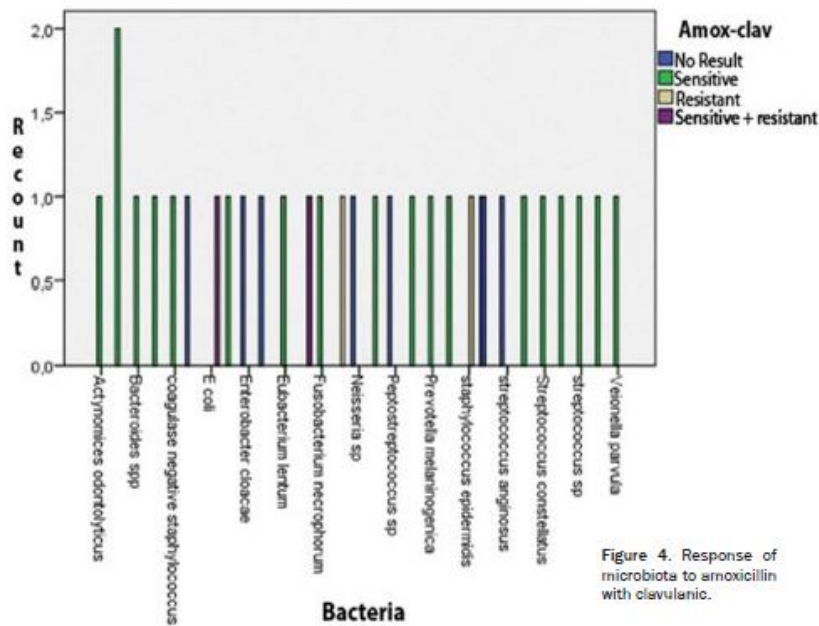


Figure 4. Response of microbiota to amoxicillin with clavulanic.

Microbiota and inflammation in ONJ

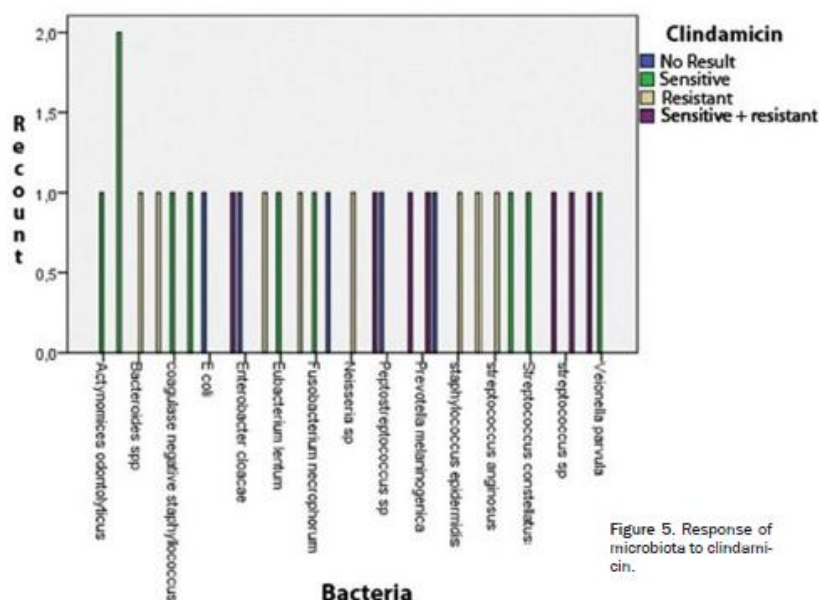


Figure 5. Response of microbiota to clindamycin.

many microorganisms in the microflora and that its role as an isolated pathogen remains unclear.

A fact clearly stated in the literature is the improvement of lesions with different antibiotic regimens. Thus, the study by Kaplan et al. [19] showed Actinomyces in lesions, which led the authors to recommend treatment with wide range antibiotics for long periods of time (between 3 and 6 months). Biasotto et al. [20] showed that treatment for shorter periods led to relapse in patients. The retrospective study of Marx et al. [21] showed that 90% remained pain-free after receiving oral penicillin VK (500 mg 4 times a day) and 0.12% chlorhexidine as a mouthwash for at least one year. Finally, the study by Naik et al. [22] coincides with the previous proposals by recommending a prolonged antibiotic regimen, in this case intravenous for 2-6 weeks followed by oral treatment for 6-12 months in the most severe cases. Moreover, these authors recommend debriding the necrotic tissue and bone sequestra if possible.

In our series, despite that the antibiotic treatment was variable, the majority of patients

improved after antibiotic treatment for periods of 2-4 weeks along with antimicrobial treatment (0.12% chlorhexidine). It should be noted, however, that the antibiograms showed resistance to penicillin G and little activity with clindamycin, azithromycin and levofloxacin, and that the combination of amoxicillin with clavulanic acid gave the best results.

Conclusions

The degree of inflammation does not appear to be correlated to the density of Actinomyces colonies observed histologically, and in some cases their presence does not trigger any type of appreciable inflammatory response. In light of the results obtained and taking into account the relationship between age and degree of inflammation, elderly patients had greater inflammation and worse response to treatment due to possible immunosuppression, conditioned by age and the pharmacological interactions typical to polymedicated patients. Although the different treatments proposed by the authors, the combination of amoxicillin with clavulanic acid gave the best results. A new option of treatment combining intravenous and oral antibiotic administration for longer periods

Microbiota and inflammation in ONJ

of time has been proposed; further standardized studies are still required. As the etiology of ONJ remains unknown, it is essential to prioritize both prevention, assessing the risk factors presence, and subsequent treatment of this disease. According to the literature, and in our experience, the bacterial component is a very important factor as regards the development and cure of ONJ; therefore we believe that antibiotic treatment can markedly improve the evolution of these patients provided it is combined with strict local control using bactericidal antiseptics such as chlorhexidine.

Disclosure of conflict of interest

None.

Address correspondence to: Mario Pérez Sayáns, Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology Unit, Faculty of Medicine and Dentistry, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago (IDIS), Santiago de Compostela, Spain, Entreríos s/n, Santiago de Compostela C.P. 15782 Spain. Tel: 00346262335-04; Fax: 0034986295424; E-mail: perezsayans@gmail.com

References

- [1] Mawardi H, Giro G and Kajiya M. A role of oral bacteria in bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. *J Dent Res* 2011; 90: 1339-1345.
- [2] Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS and Pfaller MA. A textbook of medical microbiology. 4th edition. St. Louis: Mosby; 2002. pp. 334-60.
- [3] Pulverer G, Schutt-Gerowitt H and Schaal KP. Human cervicofacial actinomycoses: Microbiological data for 1997 cases. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 490-497.
- [4] Miller M and Haddad AJ. Cervicofacial actinomycosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85: 496-508.
- [5] Greenberg MS GM. Burket's oral medicine diagnosis and treatment. 10th edition. Hamilton (Ontario): Decker; 2003. pp. 176-7.
- [6] Nagler R, Peled M and Laufer D. Cervicofacial actinomycosis: A diagnostic challenge. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997; 83: 652-656.
- [7] Parfitt AM. Bone histomorphometry: Techniques and interpretation. In: Recker RR, editor. The physiologic and clinical significance of bone histomorphometric data. Boca Raton (FL): CRC Press; 1983. pp. 143-224.
- [8] Dalle Carbonare L, Valenti MT and Bertoldo F. Bone microarchitecture evaluated by histomorphometry. *Micron* 2005; 36: 609-616.
- [9] Advisory Task Force on Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaws, American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. American association of oral and maxillofacial surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg* 2007; 65: 369-376.
- [10] Schwartz HC and Kagan AR. Osteoradionecrosis of the mandible: Scientific basis for clinical staging. *Am J Clin Oncol* 2002; 25: 168-171.
- [11] Bagan J, Scully C, Sabater V and Jimenez Y. Osteonecrosis of the jaws in patients treated with intravenous bisphosphonates (BRONJ): A concise update. *Oral Oncol* 2009; 45: 551-554.
- [12] Marx RE, Sawatari Y, Fortin M and Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: Risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg* 2005; 63: 1567-1575.
- [13] Hansen T, Kunkel M, Weber A and James Kirkpatrick C. Osteonecrosis of the jaws in patients treated with bisphosphonates-histomorphologic analysis in comparison with infected osteoradionecrosis. *J Oral Pathol Med* 2006; 35: 155-160.
- [14] Hansen T, Kunkel M and Springer E. Actinomycosis of the jaws-histopathological study of 45 patients shows significant involvement in bisphosphonate-associated osteonecrosis and infected osteoradionecrosis. *Virchows Arch* 2007; 451: 1009-1017.
- [15] edghizadeh PP, Kumar SK, Gorur A, Schaudinn C, Shuler CF and Costerton JW. Identification of microbial biofilms in osteonecrosis of the jaws secondary to bisphosphonate therapy. *J Oral Maxillofac Surg* 2008; 66: 767-775.
- [16] Mawardi H, Giro G and Kajiya M. A role of oral bacteria in bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. *J Dent Res* 2011; 90: 1339-1345.
- [17] Schipmann S, Metzler P and Rossle M. Osteopathology associated with bone resorption inhibitors - which role does actinomycetes play? A presentation of 51 cases with systematic review of the literature. *J Oral Pathol Med* 2013; 42: 587-593.
- [18] Anavi-Lev K, Anavi Y, Chaushu G, Alon DM, Gal G and Kaplan I. Bisphosphonate related osteonecrosis of the jaws: Clinico-pathological investigation and histomorphometric analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2013; 115: 660-666.
- [19] Kaplan I, Anavi K and Anavi Y. The clinical spectrum of actinomycetes-associated lesions of the oral mucosa and jawbones: Correlations with histomorphometric analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 108: 738-746.
- [20] Biasotto M, Chiandussi S and Dore F. Clinical aspects and management of bisphospho-

Microbiota and inflammation in ONJ

- nates-associated osteonecrosis of the jaws. *Acta Odontol Scand* 2006; 64: 348-354.
- [21] Marx RE. Reconstruction of defects caused by bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; 67: 107-119.
- [22] Naik NH and Russo TA. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: The role of actinomyces. *Clin Infect Dis* 2009; 49: 1729-1732.